

Luis Manuel Pérez Puentes

Recubrimientos y lechos
empaquetados basados en
materiales porosos inorgánicos
sobre distintos tipos de
dispositivos para la liberación
controlada de fármacos

Departamento
Ingeniería Química y Tecnologías del Medio
Ambiente

Director/es
Puértolas Rrafales, José Antonio
Arruebo Gordo, Manuel

<http://zaguan.unizar.es/collection/Tesis>



Universidad
Zaragoza

Tesis Doctoral

RECUBRIMIENTOS Y LECHOS EMPAQUETADOS
BASADOS EN MATERIALES POROSOS
INORGÁNICOS SOBRE DISTINTOS TIPOS DE
DISPOSITIVOS PARA LA LIBERACIÓN
CONTROLADA DE FÁRMACOS

Autor

Luis Manuel Pérez Puentes

Director/es

Puértolas Raffles, José Antonio
Arruebo Gordo, Manuel

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Ingeniería Química y Tecnologías del Medio Ambiente

2014

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA



ÁREA DE INGENIERÍA QUÍMICA

DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA QUÍMICA Y
TECNOLOGÍAS DEL MEDIO AMBIENTE

**“RECUBRIMIENTOS Y LECHOS EMPAQUETADOS
BASADOS EN MATERIALES POROSOS
INORGÁNICOS SOBRE DISTINTOS TIPOS DE
DISPOSITIVOS PARA LA LIBERACIÓN
CONTROLADA DE FÁRMACOS”**

Memoria para optar al grado de Doctor por la
Universidad de Zaragoza presentada por:

D. Luis Manuel Pérez Puentes

Zaragoza, 2014



D. José Antonio Puértolas Ráfales, Catedrático de Universidad, del área de Ciencia de Materiales e Ingeniería Metalúrgica y D. Manuel Arruebo Gordo, profesor titular del área de Ingeniería Química de la Universidad de Zaragoza,

CERTIFICAN

Que la presente memoria titulada:

“Recubrimientos y lechos empaquetados basados en materiales porosos inorgánicos sobre distintos tipos de dispositivos para la liberación controlada de fármacos”

se ha realizado bajo su dirección por **D. Luis Manuel Pérez Puentes** y se corresponde con el proyecto de tesis aprobado el 11 de septiembre de 2014, autorizando su presentación.

Y para que así conste, firmamos este certificado en Zaragoza a 30 de septiembre del 2014

Fdo.: Dr. José Antonio Puértolas Ráfales

Fdo.: Dr. Manuel Arruebo Gordo

AGRADECIMIENTOS

Parece mentira que haya llegado al final del camino... He tenido que combinar el desarrollo de la tesis con el trabajo en la educación y con la vida familiar. Tanto esfuerzo y sacrificio por mi parte y los que me rodean, al final, han tenido su recompensa.

En primer lugar querría agradecer a mis directores de tesis José Antonio Puértolas y Manuel Arruebo la confianza y paciencia puesta en mí para la realización de este trabajo, en todo momento han tenido para mí una frase de aliento que muchas veces ha supuesto un nuevo impulso en tan ardua tarea.

Quiero agradecer a todos los compañeros y amigos de laboratorio que me hayan hecho sentir parte de un gran equipo humano y de trabajo. Con ellos he compartido no sólo trabajo, sino también muchas vivencias y alegrías. Jesús Santamaría, Pili Pina, Reyes Mayada, Paco Balas, Silvia Irusta, Gema Martínez muchas gracias por vuestra ayuda y consejos cuando los he necesitado. Mireya, Inés, Laura C, Esther, Clara, Miguel U, Nuria N, Víctor, Óscar, Fernando, Edu, Patricia, Lorena, Ismael, Nuria M, Miguel E, Jesús O, Dani, Laura L, Adela, Virginia, agradeceros estos años en los que hemos trabajado duro, pero también hemos disfrutado de momentos inolvidables. Habéis compartido conmigo muchos años y entre ellos momentos muy importantes para mí. Os agradezco de corazón vuestra ayuda sin reservas en todo momento, ¡mucho suerte para el futuro!. Seguro que me olvido alguno, así que un abrazo a todos.

A compañeros de trabajo de los que he aprendido mucho durante estos años, Manolo, Vanesa, María, Yolanda, Patricia, Jesús, Rosa, Matti, Ángel, David S y a mis compañeros de tutoría Jesús M, Jaime y M^a Cruz. Gracias a todos por lo que me habéis enseñado.

A mis amigos Roberto, Vanesa, Jorge, Patricia, David, Belinda, Marcos, Belén, Jimmy, Pilar, Alex, Ana, Javi, Eva, Ismael, Tatiana, José Ignacio, Alexis, José Luis, Natalia, Alberto, Rebeca, Carlos, Elena, Rubén, Ana, Víctor, Berta, y a los pequeñines de todo el grupo. Gracias por estar ahí y alegraros de que acabe este trabajo.

Quiero agradecer a mis padres, Luis y Valentina que me han apoyado desde el comienzo de mis estudios hasta ahora. Muchas gracias por confiar en mí y apoyarme todo este tiempo. También acordarme de mi hermano Rubén, Belén y mis sobrinos Oliver y Eva.

No quiero olvidarme tampoco de mis suegros, Lourdes y José Ignacio, y mis cuñados Nacho y Laura, porque también han estado a mi lado en estos años en los que he desarrollado mi trabajo, y me han animado y apoyado cuando lo he necesitado.

Por último, darles las gracias a las dos mujeres que hoy en día ocupan mi corazón. Sin su sacrificio, ayuda y apoyo incondicional no hubiera podido sacar adelante este trabajo: mi mujer Lourdes y mi hija María. Lourdes, muchas gracias por estos años en los que te has volcado en ayudarme y apoyarme para que pudiera trabajar y estudiar lo necesario, todo esto ha sido gracias a ti. Sé que ha sido muy difícil para ti ocuparte de la mayor parte de las cosas, soportando algunas veces mucha carga. Sin embargo lo has hecho sin pedir nada a cambio. Me has ayudado en los momentos bajos y de desesperación, dándome ánimos en todo momento. Una parte del mérito que pueda tener este trabajo también es tuyo. Muchas gracias por estar a mi lado, siempre te querré. María, tú poco entenderás de lo que he estado haciendo todo este tiempo trabajando delante del ordenador, lo que sí sabes es que no he podido pasar contigo todas las horas que me has necesitado. Espero que a partir de ahora eso cambie y podamos disfrutar de más momentos juntos. También me gustaría poder responder pronto que "sí" a tu pregunta ¿ya eres "médico" papá?. Y poder jugar contigo todo lo que no he podido hasta ahora. Os quiero mucho a las dos.

"Un científico en su laboratorio no es sólo un técnico: es también un niño colocado ante fenómenos naturales que le impresionan como un cuento de hadas".

Marie Curie

A Lourdes y María por todo su apoyo

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Nanociencia, Nanotecnología y Nanobiociencia	1
1.2. Biomateriales	3
1.2.1. Aleaciones de níquel-titanio (Nitinol). Propiedades y aplicaciones.....	7
1.2.2. Acero inoxidable.....	11
1.2.3. Sílice y sus características para la nanobiociencia.....	11
1.2.4. Zeolitas. Propiedades y aplicaciones.....	13
1.2.5. Materiales mesoporosos. Propiedades y aplicaciones.....	16
1.3. Liberación de fármacos en dispositivos para enfermedades cardiovasculares	18
1.3.1. Generalidades.....	18
1.3.2. Anti-inflamatorios, inmunosupresores, anti-proliferativos, anti-cuagulantes y anti-agregantes.....	23
1.3.3. Recubrimientos de stents coronarios orgánicos.....	25
1.3.3.1. Sistema comercial stent-recubrimiento orgánico-fármaco.....	31
1.3.4. Recubrimientos inorgánicos. Aplicaciones.....	36
1.4.- Sistemas de liberación de antibióticos en cirugía ortopédica y traumatología	41
1.4.1. Generalidades.....	41
1.4.2. Antibióticos.....	44
1.4.2.1. Linezolid.....	46
1.4.3. Dispositivos para cirugía ortopédica y sus aplicaciones actuales para la liberación controlada de fármacos.....	46
1.5. Resumen y objetivos	53
1.6. Bibliografía	56
2. SISTEMA EXPERIMENTAL Y METODOLOGÍA	71
2.1. Estudio de aspectos de la biocompatibilidad del sustrato y del recubrimiento	71
2.1.1. Materiales utilizados.....	72
2.1.1.1. Substratos.....	72
2.1.1.2. Productos químicos.....	74
2.1.1.3. Materiales silíceos utilizados como recubrimiento.....	74
2.1.2. Tratamientos superficiales sobre Nitinol.....	76
2.1.2.1. Material recibido (R).....	77
2.1.2.2. Oxidación química (OQ).....	77

2.1.2.3. Calcinación (C).....	77
2.1.2.4. Oxidación hidrotermal (TH).....	77
2.1.2.5. Pulido mecánico.....	77
2.1.2.6. Pulido diamante seguido de tratamiento hidrotermal.....	78
2.1.2.7. Pulido diamante seguido de oxidación química.....	78
2.1.2.8. Tratamiento hidrotermal seguido de pulido diamante.....	78
2.1.2.9. Oxidación química seguido de pulido diamante.....	79
2.1.3. Recubrimiento de láminas de Nitinol con material silíceo.....	79
2.1.3.1. Recubrimiento con MCM-48.....	79
2.1.3.1.1 <u>Método de Colvin</u>	79
2.1.3.1.2 <u>Enlace covalente</u>	80
2.1.3.2. Recubrimiento con cristales de silicalita-1.....	81
2.1.3.2.1 <u>Enlace covalente</u>	81
2.1.3.2.2. <u>Síntesis hidrotermal directa</u>	82
2.1.4. Técnicas de caracterización.....	83
2.1.4.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM) y espectroscopia dispersiva de rayos-X (EDX).....	83
2.1.4.2. Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS).....	85
2.1.4.3. Difracción de rayos X (XRD).....	86
2.1.4.4. Medidas de ángulo de contacto.....	87
2.1.4.5. Rugosidad superficial.....	87
2.1.4.6. Espectroscopia de emisión atómica en plasma (ICP).....	89
2.1.4.6.1. <u>Experimentos de lixiviación de Níquel</u>	90
2.1.4.6.2. <u>Estudio de la influencia del canto en la lixiviación de níquel</u>	92
2.1.4.6.3. <u>Estudio de la Influencia de la combinación de tratamientos en la lixiviación de níquel</u>	93
2.1.4.7. Análisis de superficie específica mediante adsorción de N ₂ (método BET).....	93
2.1.4.8. Método ponteciodinámico.....	96
2.1.4.8.1. <u>Instalación de ensayos de corrosión</u>	98
2.1.4.8.2. <u>Experimentos de corrosión</u>	100
2.1.4.9. Caracterización mecánica.....	101
2.1.4.9.1. <u>Instalación de ensayos de flexión por 3 puntos</u>	101
2.1.4.9.2. <u>Experimentos de flexión por 3 puntos</u>	103
2.2. Estudio de liberación de fármacos	105
2.2.1. Liberación desde lecho empaquetado.....	105
2.2.1.1 <u>Materiales utilizados</u>	105

2.2.1.1.1. <i>SBF (Fluido Biológico Simulado)</i>	105
2.2.1.1.2. <i>MCM-41</i>	105
2.2.1.1.3. <i>Microesferas mesoporosas MEM</i>	106
2.2.1.1.4. <i>SBA-15</i>	106
2.2.1.1.5. <i>Linezolid</i>	107
2.2.1.1.6. <i>Tornillos huecos de pared porosa</i>	109
2.2.1.2. <i>Experimentación realizada</i>	109
2.2.1.2.1. <i>Ensayos mecánicos</i>	109
2.2.1.2.2. <i>Carga del fármaco en el material poroso</i>	110
2.2.1.2.3. <i>Lavado del material poroso</i>	111
2.2.1.2.4. <i>Ensayo de liberación</i>	113
2.2.2. <i>Liberación a través de membrana</i>	114
2.2.2.1. <i>Materiales utilizados</i>	114
2.2.2.1.1. <i>Fármaco</i>	114
2.2.2.1.2. <i>Membrana de silicalita</i>	114
2.2.2.1.3. <i>Tornillos huecos de acero inoxidable</i>	114
2.2.2.2. <i>Síntesis de la membrana en el orificio</i>	115
2.2.2.3. <i>Ensayos de liberación</i>	116
2.2.3. <i>Técnicas de caracterización</i>	116
2.2.3.1. <i>Espectrofotometría UV-Visible</i>	116
2.2.3.2. <i>Instalación experimental</i>	118
2.3. Bibliografía	120
3. ASPECTOS DE LA BIOCMPATIBILIDAD DEL SUSTRATO	125
3.1. Estudio del sustrato	129
3.1.1. <i>Difracción de rayos X (XRD)</i>	130
3.1.2. <i>Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS)</i>	130
3.1.2.1. <i>Material recibido (MR)</i>	130
3.1.2.2. <i>Pre-tratamiento por HNO₃ (oxidación química)</i>	134
3.1.2.3. <i>Pre-tratamiento por calcinación</i>	135
3.1.2.4. <i>Pre-tratamiento hidrotermal</i>	136
3.1.2.5. <i>Pre-tratamiento de pulido mecánico (PM)</i>	137
3.1.2.5.1. <i>PM acabado con polvo de alúmina PA</i>	137
3.1.2.5.2. <i>PM acabado con polvo de diamante PD</i>	138
3.1.2.6. <i>Pre-tratamiento de pulido mecánico seguido de oxidación química (PDOQ)</i>	142

3.1.2.7. <i>Pre-tratamiento de pulido mecánico seguido de tratamiento hidrotermal (PDTH)</i>	143
3.1.2.8. <i>Pre-tratamiento hidrotermal seguido de pulido mecánico(THPD)</i>	144
3.1.2.9. <i>Pre-tratamiento de oxidación química seguido de pulido mecánico (OQPD)</i>	145
3.1.2.10. <i>Material recibido sumergido 15 y 70 días en SBF</i>	146
3.1.2.11. <i>Resumen</i>	147
3.1.3. <i>Rugosidad de la superficie</i>	151
3.1.4. <i>Ángulo de contacto</i>	153
3.1.5. <i>Experimentos de flexión</i>	155
3.1.5.1. <i>Material recibido (MR)</i>	156
3.1.5.2. <i>Material calcinado</i>	157
3.1.5.3. <i>Pre-tratamiento de oxidación hidrotermal</i>	157
3.1.5.4. <i>Pre-tratamiento de pulido diamante</i>	158
3.1.6. <i>Ensayos de corrosión</i>	159
3.1.6.1. <i>Material recibido</i>	160
3.1.6.2. <i>Pre-tratamiento por oxidación química</i>	161
3.1.6.3. <i>Pre-tratamiento por oxidación hidrotermal</i>	163
3.1.6.4. <i>Pre-tratamiento por pulido mecánico finalizado con dispersión de polvo de alúmina</i>	163
3.1.6.5. <i>Pre-tratamiento por pulido mecánico finalizado con dispersión de polvo de diamante</i>	165
3.1.6.6. <i>Pre-tratamiento por pulido mecánico finalizado con dispersión de polvo de diamante y posterior tratamiento hidrotermal (PDTH)</i> ..	166
3.1.6.7. <i>Pre-tratamiento por pulido mecánico finalizado con dispersión de polvo de diamante y posterior oxidación química (PDOQ)</i>	167
3.1.6.8. <i>Pre-tratamiento hidrotermal seguido por pulido mecánico finalizado con dispersión de polvo de diamante (THPD)</i>	168
3.1.6.9. <i>Pre-tratamiento de oxidación química seguido por pulido mecánico finalizado con dispersión de polvo de diamante (OQPD)</i>	169
3.1.6.10. <i>Resumen de los ensayos de corrosión sobre sustrato de NiTi</i>	170
3.1.6.11. <i>Material recibido de acero poroso</i>	173
3.1.7. <i>Lixiviación de níquel</i>	175
3.1.7.1. <i>Estudio de la influencia del área lateral o canto en la lixiviación de níquel</i>	178
3.1.8. <i>Resumen del comportamiento general (biocompatibilidad)</i>	181
3.2. Bibliografía	183

4. ASPECTOS DE LA BIOCMPATIBILIDAD DE LOS RECUBRIMIENTOS.....	189
4.1. Estudio de los recubrimientos basados en micropartículas esféricas mesoporosas.....	193
4.1.1. Método de Colvin.....	193
4.1.1.1. Recubrimiento sobre material recibido.....	193
4.1.1.2. Recubrimiento sobre material pulido.....	195
4.1.2. Enlace covalente.....	196
4.2. Estudio de los recubrimientos de silicalita-1.....	198
4.2.1. Enlace covalente.....	198
4.2.1.1. Recubrimiento sobre material recibido.....	198
4.2.1.2. Recubrimiento sobre material pre-tratado con HNO ₃ , pre-tratado hidrotermalmente y pre-tratado por calcinación.....	200
4.2.1.3. Recubrimiento sobre material pre-tratado mediante pulido mecánico.....	201
4.2.2. Síntesis hidrotermal directa.....	206
4.3. Resumen de los resultados obtenidos en los distintos tipos de recubrimientos.....	209
4.4. Estudio del efecto de los distintos métodos de recubrimiento en las propiedades fisico-químicas del Nitinol.....	210
4.4.1. Rugosidad de la superficie.....	210
4.4.2. Ángulo de contacto.....	212
4.4.3. Experimentos de flexión.....	213
4.4.3.1. Nitinol recibido recubierto con microesferas mesoporosas mediante el método de Colvin.....	213
4.4.3.2. Nitinol recibido recubierto con microesferas mesoporosas mediante enlace covalente, método de Ha.....	213
4.4.3.3. Nitinol pulido a diamante recubierto con silicalita-1 mediante enlace covalente, método de Ha.....	215
4.4.3.4. Nitinol pulido a diamante recubierto con silicalita-1 mediante enlace covalente, método de Lee.....	216
4.4.3.5. Nitinol recibido recubierto con silicalita-1 mediante síntesis directa.....	216
4.4.4. Ensayos de corrosión.....	218
4.4.4.1. Material recibido recubierto con microesferas mesoporosas siguiendo el método de Colvin.....	218
4.4.4.2. Material pulido diamante recubierto con silicalita-1 siguiendo el método de enlace covalente.....	219
4.4.5. Lixiviación de níquel.....	221
4.5. Bibliografía.....	224

5. LIBERACIÓN DE FÁRMACOS EN CIRUGÍA ORTOPÉDICA Y TRAUMATOLOGÍA.....	227
5.1. Estudio mecánico del dispositivo.....	228
5.2. Liberación desde lecho empaquetado.....	233
5.2.1. Materiales utilizados.....	233
5.2.1.1. MCM-41.....	233
5.2.1.1.1. <u>Microscopía electrónica de barrido (SEM) y</u> <u>microscopía electrónica de transmisión (TEM).....</u>	233
5.2.1.1.2. <u>Difracción de rayos X (XRD).....</u>	235
5.2.1.1.3. <u>Análisis de superficie específica mediante adsorción</u> <u>de N₂ (método BET).....</u>	235
5.2.1.2. Microesferas mesoporosas (MEM).....	237
5.2.1.2.1. <u>Microscopía electrónica de barrido (SEM) y</u> <u>microscopía electrónica de transmisión (TEM).....</u>	237
5.2.1.2.2. <u>Difracción de rayos X (XRD).....</u>	240
5.2.1.2.3. <u>Análisis de superficie específica mediante adsorción</u> <u>de N₂ (método BET).....</u>	240
5.2.1.3. SBA-15.....	242
5.2.1.3.1. <u>Microscopía electrónica de barrido (SEM) y</u> <u>microscopía electrónica de transmisión (TEM).....</u>	242
5.2.1.3.2. <u>Difracción de rayos X (XRD).....</u>	243
5.2.1.3.3. <u>Análisis de superficie específica mediante adsorción</u> <u>de N₂ (método BET).....</u>	243
5.2.2. Carga de fármaco y lavado del material resultante.....	244
5.2.2.1. MCM-41.....	245
5.2.2.2. MEM.....	245
5.2.2.3. SBA-15.....	246
5.2.2.4. <i>Resumen sobre la carga de Linezolid.....</i>	248
5.2.3. Cinética de liberación en SBF del fármaco adsorbido en el material poroso.....	249
5.2.3.1. MCM-41.....	249
5.2.3.2. MEM.....	251
5.2.3.3. SBA-15.....	257
5.2.3.4. Cuarzo.....	259
5.2.3.5. <i>Disolución hospitalaria.....</i>	260
5.2.3.6. <i>Resumen de la liberación de Linezolid en SBF.....</i>	261
5.3. Liberación a través de membrana.....	262
5.3.1. Materiales utilizados.....	262
5.3.2. Ensayos previos.....	263

5.3.3. Experimentación realizada.....	263
5.3.4. Resumen de liberación a través de membrana.....	265
5.4. Bibliografía.....	266
6. CONCLUSIONES.....	271
6.1. Tratamientos superficiales.....	271
6.2. Recubrimientos.....	272
6.3. Liberación de fármacos.....	273
7. PUBLICACIONES.....	275
7.1. Artículos relacionados con este trabajo.....	275
7.2. Contribuciones a congresos.....	276
7.3. Patentes.....	277

1. INTRODUCCIÓN

En este capítulo se pretende ofrecer una visión general del estado del arte de la utilización de sistemas de liberación de fármacos desde dispositivos médicos utilizados en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares y en traumatología y cirugía ortopédica. Se mostrará cómo la nanociencia y nanotecnología pueden ofrecer alguna ventaja en el tratamiento de estas enfermedades y se hace un repaso de los biomateriales y fármacos más utilizados en estos campos.

1.1. Nanociencia, Nanotecnología y Nanobiociencia

La nanotecnología se define como el «desarrollo de ciencia y tecnología a niveles atómicos y moleculares, en la escala de aproximadamente 1-100 nm, para obtener una comprensión fundamental de fenómenos y materiales en dicha escala nanométrica y para crear y usar estructuras, dispositivos y sistemas que tengan nuevas propiedades y funciones debido a su tamaño» [1].

Los materiales cuando se trabajan a escala nanométrica poseen unas propiedades ópticas, mecánicas, eléctricas, magnéticas, cuánticas y fisico-químicas únicas [1,2] que las hacen muy atractivas para la industria. La *National Science Foundation* de EE.UU. estima que la nanotecnología alcanzará unas cifras de mercado en 2015 de un billón (10^{12}) de dólares en el mundo, representando el segmento de nanomateriales el 31% del total, que incluyen a los materiales nanoestructurados, nanopartículas, nanopolvos, materiales nanoporosos, nanofibras, fullerenos, nanotubos de carbono, grafeno y sus derivados, nanohilos, dendrímeros, puntos cuánticos (*quantum dots*) y láminas delgadas [3]. Por ejemplo, el que es considerado como el primer material médico nanotecnológico aprobado por la *Food and Drug Administration* (FDA) en 2005, la nanohidroxiapatita sintética NanOss[®], desarrollada por Angstrom Medica (Woburn, MA, USA) para aplicaciones ortopédicas, aunque no libera fármaco, se utiliza en rellenos de defectos óseos [4]. La figura 1.1 muestra un esquema de las medidas representativas de la

nanotecnología para mostrar cómo la interacción entre nanomateriales y muchas biomoléculas de interés biomédico es directa.

Una rama de la nanotecnología es la nanomedicina, que es la aplicación de la nanotecnología en las ciencias de la salud, sector con una gran proyección en un futuro próximo debido a sus importantes implicaciones. El objetivo principal de la nanomedicina es el desarrollo de herramientas para diagnosticar, prevenir y tratar enfermedades cuando están todavía en estados poco avanzados o en el inicio de su desarrollo [1]. La nanomedicina agrupa tres áreas principales, el nanodiagnóstico, la medicina regenerativa y la liberación controlada de fármacos (nanoterapia) [1].



Figura 1.1.- Las medidas de la nanotecnología. Adaptado de [1].

En este ámbito, para la administración de fármacos se han desarrollado una gran cantidad de nanoestructuras: nanopartículas, nanocápsulas, dendrímeros, liposomas, micelas, nanotubos, etc. que liberan el fármaco en el sitio específico donde se requiere y con la cinética de liberación deseada [1].

También han existido avances en la ingeniería regenerativa de tejidos, como en el caso de los tejidos óseo, cartilaginoso, nervioso, pancreático, de hígado y ocular, mediante el desarrollo de nanomateriales y andamios basados en nanomateriales que pueden liberar fármacos, factores de crecimiento y células madre entre otras cosas [5].

Por todo lo anterior, y a la vista de la enorme ventaja que supone la utilización de compuestos nanoestructurados para terapia dada la vectorización del fármaco exclusivamente en la zona afectada, evitando así efectos secundarios en otras zonas del cuerpo [1], el presente trabajo está encaminado a la utilización de materiales de silicio micro y meso poroso para la liberación controlada de fármacos encapsulados en dichos poros ofreciendo una alternativa a los materiales poliméricos que están ampliamente utilizados en estas aplicaciones.

1.2. Biomateriales

Un biomaterial es un material que trata de interactuar interfacialmente con el sistema biológico para evaluar, tratar, aumentar o reemplazar cualquier tejido, órgano o función del cuerpo [6]. También puede definir un biomaterial como aquel material que no produce reacciones no deseadas en la interfaz tejido-material y que mantiene sus propiedades (de reconstrucción del organismo o de soporte) durante todo el tiempo que tiene que estar en servicio [7]. Por otra parte se define biocompatibilidad como la habilidad de un material para realizar una aplicación específica con una apropiada respuesta del sistema biológico [6]. Las aplicaciones de los biomateriales se centran en cuatro campos: implantes y prótesis, biosensores, sistemas de liberación de fármacos y andamiajes para ingeniería de tejidos. Dependiendo de la naturaleza de los enlaces del biomaterial, éstos se pueden dividir en cerámicos, metálicos, poliméricos o materiales compuestos (composites).

Cerámicos: las cerámicas son conocidas por su excelente resistencia al desgaste, buena resistencia a la degradación en ambientes corrosivos, elevados valores de dureza y puntos de fusión [8]. Son en general frágiles y se suelen utilizar en aplicaciones que no requieran una carga excesiva:

hidroxiapatita [7,9], biovidrios (actualmente se utilizan los sistemas basados en $\text{SiO}_2\text{-CaO-NaO-P}_2\text{O}_5$ y $\text{Li}_2\text{O-ZnO-SiO}_2$), sulfatos de calcio, fosfatos de calcio, carbono tipo diamante (DLC) [10], grafeno [11]. La hidroxiapatita y las cerámicas de cristal se utilizan como recubrimientos en los tallos de las prótesis de cadera; los materiales basados en fosfato de calcio se usan como andamios porosos, implantes en la columna e injertos óseos [8]. Sin embargo, la alúmina (Al_2O_3) y la zirconia (ZrO_2) sí que pueden utilizarse en aplicaciones que requieran una gran carga como puede ser las articulaciones de cadera [7]. La alúmina se emplea en ese tipo de aplicaciones debido a su bajo coeficiente de fricción y resistencia al desgaste mientras que la zirconia tiene una elevada resistencia a la fractura y resistencia mecánica [12].

Las cerámicas pueden ser inertes (sin interacción con el medio que le rodea) como por ejemplo el carbono pirolítico diamante DLC [10], el grafeno, el SiC [13,14], la alúmina (Al_2O_3) y la zirconia (ZrO_2) o bioactivas (reaccionan con el entorno y favorecen la osteointegración) como puede ser la hidroxiapatita o los biovidrios [9].

Las propiedades de las cerámicas pueden mejorarse en un futuro lo que implicará ampliar el rango de aplicaciones en el campo de la ingeniería de tejidos en las que tendrán un papel principal [8].

Metálicos: los biomateriales metálicos continúan siendo elegidos para la fabricación de implantes quirúrgicos debido a que los metales tienen buenas propiedades mecánicas, elevada dureza, resistencia a la fractura, resistencia a la corrosión, dan un rendimiento fiable a largo plazo en situaciones de carga-descarga durante mucho tiempo [8] y pueden fabricarse todo tipo de implantes metálicos con relativa facilidad de mecanizado. El uso de biomateriales metálicos ha crecido en el campo de la ortopedia y odontología donde una mayor carga es necesaria. Aunque las mismas razones han conducido a los biomateriales metálicos a crecer en el campo de de los dispositivos cardiovasculares (válvulas artificiales del corazón y stents cardiovasculares). Los materiales normalmente utilizados son el acero inoxidable, la aleación Co-Cr-Mo, aleaciones de ZrNb, o Ti y sus aleaciones, β -Ti, Ti6Al4V, Ti5Al2.5Fe

y el NiTi (Nitinol) [8,15-19]. Su principal desventaja es la lixiviación de iones metálicos, como por ejemplo el níquel que pueden ocasionar algún tipo de reacciones alérgicas [20,21]. También existen implantes metálicos bioerosionables como la aleación de Mg-Zn-Ag [22] y metales porosos como el tantalio con fuerte actividad osteointegradora. El platino y la aleación platino-iridio con una elevada resistencia a la corrosión son usados para la fabricación de electrodos con el propósito de la estimulación eléctrica y detección, también son empleados en aplicaciones dentales [8].

Poliméricos: Son muy interesantes debido a que existe una gran variedad de compuestos posibles para su formulación, se pueden fabricar de muy distintas maneras y son fáciles de conformar en fibras, tejidos, películas o bloques [7]. Los biopolímeros utilizados en aplicaciones médicas pueden agruparse en polímeros naturales, inertes, bioactivos y bioerosionables. Los inertes, se adaptan muy bien con algunas aplicaciones que están destinadas a durar toda la vida, tales como polímeros de implante mamario. Cuando aparecieron las primeras preocupaciones sobre el uso de polímeros inertes la situación derivó hacia el uso de polímeros bioerosionables [8].

Polímeros naturales: son biomateriales de origen natural como el colágeno que es el principal componente de las matrices extracelular del tejido de los mamíferos tales como la piel, el hueso, cartílagos tendones y ligamentos. Utilizado como andamio para el cultivo de tejido o piel artificial debido a que es capaz de unirse a muchos tipos diferentes de células y que su degradación es similar al de las células. La fibrina se utiliza como un sellador y un adhesivo en la cirugía, ya que desempeña un papel importante en la curación natural de la herida. Los polisacáridos como la carboximetilcelulosa (CMC) ofrece un atractivo uso clínico como matriz para la liberación de fármacos. Los glicosaminoglicanos como pueden ser la heparina y el hialuronato que son candidatos interesantes para el desarrollo de biomateriales implantables, la heparina para la regeneración y curación de tejido y el hialuronato para la aplicación en ingeniería de tejidos como piel artificial. El quitosano para la obtención de implantes reabsorbibles y biológicamente activos [8].

Polímeros inertes: son aquellos que no interaccionan con el tejido circundante como por ejemplo la silicona, el polipropileno, el polietileno (que se suele utilizar en prótesis de rodilla y cadera) [8] y el polimetilmetacrilato (PMMA). Este último, se suele utilizar como cemento óseo [23] y como lentes intraoculares. Otros polímeros inertes son las poliamidas que tienen su utilización en suturas quirúrgicas y membranas de hemodiálisis; los poliésteres como el polietilentereftalato (PET) que se utilizan en injertos vasculares, los poliéteres como el óxido de polietileno (PEO) utilizado en liberación de fármacos y el polietilenglicol (PEG) que gracias a su biocompatibilidad y baja toxicidad ha sido usado como excipiente en fármacos para administración oral o inyectable, y para llevar a cabo la modificación de la superficie de biomateriales [8].

Polímeros bioactivos: este tipo de polímeros son aquellos que tienen una actividad biológica inherente o están unidos covalentemente con fármacos entre éstos se encuentran los polímeros policatiónicos o polianiónicos, polipéptidos, polisacáridos. En el conjunto fármaco/polímero al estar unido dicho fármaco con el polímero adecuado se consigue una difusión más lenta y por lo tanto que la terapia se prolongue durante más tiempo. Los polímeros pro-fármacos diseñados para proteger de una rápida eliminación o metabolización del fármaco de interés. Se denomina pro-fármaco a aquel fármaco que es activo únicamente cuando se ha separado del polímero que lo protege.

Polímeros bioerosionables: son polímeros insolubles que por medio de reacciones químicas en el organismo, se convierten lentamente en materiales solubles. Es decir, interaccionan con el medio que les rodea y se degradan con el tiempo cuando su función ha acabado, por ejemplo la policaprolactona [8], el ácido poliláctico (PLA), ácido poliglicólico y copolímero de ácido láctico y glicólico (PLGA), que se pueden usar como sistemas de liberación de fármacos en stents cardiovasculares [24] o en andamios para reconstrucción ósea [25]. Los polianhídridos, aprobados por la FDA para ser utilizados para la liberación controlada de agentes contra el cáncer en el cerebro. Por último los ésteres de polifosfato y los polifosfacenos usados también para la liberación controlada de fármacos [8].

Materiales compuestos (composites): son la combinación de materiales con diferencias significativas en sus propiedades físicas y químicas, cuyo resultado es un material con unas propiedades distintas a las que tienen los materiales por separado y fruto de la sinergia entre los elementos constituyentes. Los materiales forman fases heterogéneas dentro de la estructura final [26]. Por ejemplo, el hueso humano es un composite natural, formado por cristales de apatita natural embebidos en una matriz polimérica de colágeno [27]. Un composite utilizado con éxito es la hidroxiapatita embebida en una matriz de polietileno de ultra alto peso molecular así como las biocerámicas combinadas con una matriz polimérica cuyo resultado presenta propiedades mecánicas similares a las del hueso [27]. Otros composites que se utilizan en cirugía ortopédica, son los formados por una matriz de PLGA en la que se embeben sílice mesoporosa e hidroxiapatita [25] o bio-vidrios mesoporosos/seda [28].

A continuación se describen los biomateriales utilizados en este trabajo, tales como los sustratos metálicos de acero inoxidable 316L y la aleación de NiTi así como la sílice, zeolitas y los distintos materiales mesoporosos.

1.2.1. Aleaciones de níquel-titanio (Nitinol). Propiedades y aplicaciones

El Nitinol es una aleación equiatómica de níquel y titanio descubierta en el U.S. Naval Ordnance Laboratory [29], que pertenece al grupo de materiales con memoria de forma, (*Shape Memory alloys*, *SMA*). El efecto de memoria de forma es una propiedad asociada únicamente a ciertas aleaciones que presentan transformaciones no difusionales en estado sólido entre una fase austenita y otra martensita que se denomina transformación martensítica, en analogía con los aceros. En la transformación martensítica se produce un movimiento cooperativo de átomos debido a mecanismos de deformación de Bain y de maclado, que dejan invariantes algunos planos cristalográficos [30].

Esta transformación se produce desde una fase a alta temperatura, la fase β_2 , conocida como austenita (A) a otra fase a baja temperatura llamada martensita (M) [31]. La austenita posee estructura cristalina cúbica (BBC) y la

martensita monoclínica. La transformación martensítica en estas aleaciones es termoelástica, es decir, que una vez los cristales de martensita se han formado crecen conforme la temperatura disminuye, y de la misma manera disminuyen su tamaño si el material es calentado. Este hecho es crucial para el efecto de memoria de forma.

En la transformación austenita-martensita se definen las temperaturas singulares o características de transformación. Así, cuando el material está en fase austenita y se enfría, empieza a aparecer la estructura martensítica a una temperatura denominada M_s . A medida que se sigue enfriando la transformación continúa hasta que la transformación es completa a una temperatura denominada M_f . Como la transformación es reversible cuando se calienta desde la temperatura M_f , se alcanza la temperatura A_s , que es aquella en la que comienza a aparecer la fase austenita en la matriz martensítica. La temperatura A_s no coincide con la temperatura M_f porque existe cierta histéresis térmica. Al seguir calentado la transformación en austenita es completa al alcanzar la temperatura A_f . Pero además de estas dos fases, en ocasiones, aparece una tercera fase intermedia conocida como fase R (R) que tiene estructura cristalina romboédrica. En estos casos, la transformación austenita-martensita, que antes era directa, se produce en dos fases: $A \rightarrow R$ y $R \rightarrow M$. La aparición de esta fase depende de varios factores, como son la temperatura de recocido, la deformación previa, el incremento de porcentaje de Ni, los ciclos térmicos y en envejecimiento [30].

El efecto de memoria de forma consiste en el fenómeno por el cual una muestra deformada cuando se encuentra en fase martensita recupera su forma original, previamente definida, como consecuencia del proceso de transformación que se produce al someter a un tratamiento térmico adecuado al material y evolucionar hacia la forma austenita [31].

Asociado a este comportamiento, el material presenta una superelasticidad que le confiere la propiedad de soportar grandes deformaciones elásticas con tensiones relativamente pequeñas. Junto a estas propiedades, el material presenta características mecánicas importantes como

una alta anelasticidad, tensión de descarga constante, deformación plástica uniforme y resistencia al plegamiento. La anelasticidad se denomina al comportamiento elástico dependiente del tiempo, es decir, que la deformación elástica continúa aumentando después de aplicar la carga, y al retirar la carga se requiere que transcurra algún tiempo para que el material se recupere completamente y es causado por la dependencia del tiempo de los mecanismos microscópicos que tienen lugar cuando el material se deforma. En los metales, la componente anelástica es normalmente pequeña y, a menudo, despreciable [32]. La figura 1.2 representa un esquema de los comportamientos de memoria de forma y superelasticidad que presenta el NiTi.

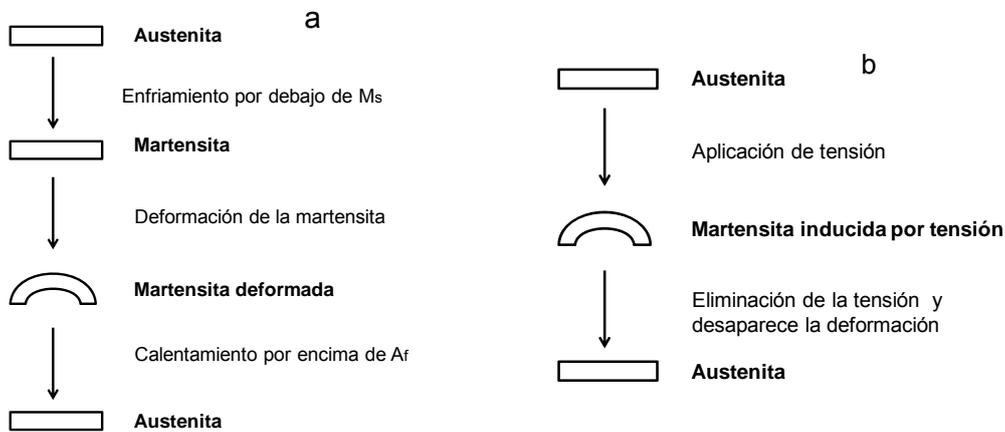


Figura 1.2.- Esquema del proceso. (a) Memoria de forma. (b) Superelasticidad.

Adaptada de [30]

Esta potencialidad no se ha visto reflejada de una manera extensa en aplicaciones en diversos sectores tecnológicos [33]. Las causas se asocian a su complejo comportamiento termomecánico, a la dificultad de recoger este comportamiento en programas de simulación de elementos finitos y por lo tanto en el diseño de dispositivos, a las pocas pre-formas disponibles en el mercado y a la dificultad intrínseca de su tecnología de conformado [34]. Estos factores junto a su precio alto han contribuido a una ralentización en su introducción industrial, sin embargo, esta tendencia ha experimentado un fuerte cambio en los últimos años gracias a que se han solventado parcialmente los problemas anteriores y que tanto la superelasticidad como la memoria de forma son efectos más acusados en el NiTi que en otras SMA. Esta tendencia ha

originado que la aplicación del NiTi se haya extendido a diversos sectores industriales, apareciendo innumerables aplicaciones del Nitinol en campos tan diversos como el del automóvil, aeroespacial, mini actuadores, sistemas micro-electromecánicos, robótica y biomédico [35-40].

Por otra parte, una de la aplicaciones biomédicas mas estudiadas es la predisposición claramente definida hacia la sustitución de los stents de acero inoxidable por stents de NiTi como material base [41-43] ya que además de su biocompatibilidad, esta aleación presenta un alto grado de superelasticidad, que facilita la implantación en el sistema cardiovascular, debido a que su gran flexibilidad, permite la introducción en catéteres de pequeño diámetro. Stents con estructuras de nudos rígidos y celdas romboédricas permiten obtener altos grados de expansión radial con fuerzas radiales sostenidas, sin experimentar fuertes acortamientos, y además con una alta resistencia a compresión-aplastamiento, junto con una buena adaptación perimetral y longitudinal.

A pesar de la excelente biocompatibilidad y resistencia a la corrosión [44] del NiTi por su capa de pasivación de TiO_2 , aceptado por la FDA como de clase II (material de riesgo moderado-alto), algunos iones de níquel pueden liberarse de la aleación hacia los tejidos adyacentes, provocando molestias locales y efectos sistémicos en algunos pacientes. Muchos métodos se han aplicado para mejorar la capa de óxido de titanio que protege dicha liberación [45].

De todos los materiales de memoria de forma disponibles, FePt, AuCd, AgCd, CuZn, CuZnAl, CuAlMn, CuAlNi y NiTi, el Nitinol y sus aleaciones presentan la ventaja adicional de su biocompatibilidad [46]. La baja toxicidad de este material y su poca tendencia a la ionización es producto de la capa pasivada de TiO_2 que lo recubre, lo que implica que el NiTi puede competir en prótesis y dispositivos utilizados en medicina [47,48], en particular en traumatología, ortodoncia y radiología intervencionista, con otros materiales metálicos biocompatibles como los aceros 316L, 316LVM, el titanio y sus aleaciones o la aleación CoCrMo.

1.2.2. Acero inoxidable

El acero inoxidable 316 L es junto con las aleaciones de titanio y la aleación de Cr-Co los materiales metálicos más utilizados para la fabricación de implantes en cirugía ortopédica, traumatología y dispositivos cardiovasculares [49].

El primer acero inoxidable utilizado para la fabricación de implantes fue el 18-8, por sus características mecánicas apropiadas y resistencia a la corrosión. Posteriormente, se introdujeron los aceros 18-8-Mo con el fin de aumentar la resistencia a la corrosión en soluciones salinas. Esta aleación fue conocida como acero inoxidable 316. En los años 50, el contenido de carbón de acero 316 fue reducido de 0.08% (tanto por ciento en peso) hasta un máximo de 0.03%, lo que mejoró su resistencia a la corrosión en soluciones cloradas y la sensibilización del mismo (formación de carburos de cromo que producen corrosión intercrystalina). Este acero pasó a denominarse 316L. Los aceros inoxidables, especialmente el 316L y el 316LVM, este último colado en vacío, se siguen utilizando como biomateriales osteoarticulares, principalmente para la fabricación de clavos intermedulares, tornillos y placas de osteosíntesis. Su composición química es la siguiente: 65 % Fe, 17-20 % Cr, 10-17 % Ni, 2-4 % Mo, 0.03 % C, con menos del 2.8% de otros aleantes como Mn, P, S, Si. Estos aceros no son endurecibles por tratamiento térmico, pero pueden endurecerse por trabajo en frío. Metalúrgicamente, el níquel estabiliza la fase austenita, fase γ , a temperatura ambiente, aunque la estabilidad de esta fase depende también del contenido de Cr que proporciona resistencia a la corrosión mediante la capa pasivada [50].

1.2.3. Sílice y sus características para la nanobiociencia

Los metales biocompatibles tienen dos ventajas esenciales para la industria, son fácilmente accesibles y tienen unas excelentes propiedades mecánicas lo que hace de ellos materias primas adecuadas para la fabricación de implantes metálicos [51]. Sin embargo, los fluidos corporales a los que están sometidos los implantes metálicos son altamente corrosivos, lo que afecta a su

biocompatibilidad ya que se producen liberación de iones que provocan reacciones adversas en los tejidos que rodean el implante [51]. De ahí surge la idea de contar con implantes metálicos recubiertos de materiales silíceos, que además de estabilizar el segmento óseo sobre el que se implantan, sean capaces de liberar desde su superficie sustancias osteoinductoras o vehículos de dichas sustancias y que puedan servir como efecto barrera a iones metálicos, para que permitan el desarrollo de un ambiente biológico periférico al implante idóneo para la formación y regeneración de hueso u otros tejidos.

En este contexto, el silicio es un elemento químico con unas características adecuadas para ser utilizado en biomedicina por su biocompatibilidad y la biodegradabilidad [52]. Presenta un comportamiento bioactivo cuando se une al tejido óseo y se puede utilizar para la fabricación de implantes o para recubrirlos y cuando el silicio nanoestructurado se degrada la toxicidad es baja para el organismo. Algunos estudios han sugerido que el silicio puede ser esencial para el normal desarrollo del tejido conjuntivo y el esqueleto [53]. Se ha comprobado que tiene un doble efecto en el metabolismo del hueso ya que por un lado estimula la formación de osteoblastos y por otro inhibe la formación de osteoclastos, lo que sugiere que el Si tiene propiedades interesantes para el tratamiento de defectos en el hueso [53,54].

Por lo tanto, los óxidos de silicio, como elemento constituyente de los biovidrios permiten recubrir acero 316L para evitar la lixiviación de iones y además favorecer la formación de hueso [51]. Se ha demostrado que recubrimientos de sílice y bio-vidrios favorecen la formación, la adhesión y la calidad del hueso que se forma alrededor del implante [55]. Además de acero inoxidable, sustratos de titanio también se han recubierto con recubrimientos bioactivos de $\text{SiO}_2\text{-P}_2\text{O-CaO-Na}_2\text{O}$ que favorecen la formación de hidroxiapatita nanoestructurada gracias a la existencia de una nanoestructura en el recubrimiento [56].

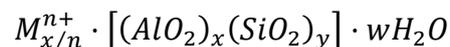
Nanofibras de sílice mesoporosa que combinan microporos, mesoporos y macroporos han sido utilizadas para la fabricación de andamiajes donde se demuestra la proliferación de osteoblastos humanos (MG63), lo que implica un

indicio de que se trata de un material propicio para aplicaciones ortopédicas [57]. Cuando se añaden nanopartículas de SiO₂ a andamios fabricados de quitosano y alginato se mejora, la formación de hidroxiapatita, lo que indica que el SiO₂ es un precursor en la formación de hueso [58]. Otros andamios fabricados con una estructura parecida a la lana de algodón utilizan un polímero bioerosionable como es el ácido poli (L-láctico) (PLLA) que contiene en su estructura vaterita (CaCO₃) dopada con silicio que también favorece la proliferación de osteoblastos [59].

1.2.4. Zeolitas. Propiedades y aplicaciones

Según la definición de la IUPAC, los materiales porosos se clasifican según el tamaño de poros en microporosos (< 2 nm), mesoporos (2-50 nm) y macroporos (> 50 nm) [60].

Las zeolitas son aluminosilicatos cristalinos de elementos de los grupos IA y IIA, con una estructura microporosa en donde se alojan moléculas de agua. La fórmula estructural de las zeolitas se basa en la celdilla unidad cristalográfica representada como [61]:



donde M es el catión de compensación de la estructura formada por el aluminosilicato, n es la valencia del catión, y donde hay w moléculas de agua adsorbidas por celdilla unidad.

Las características de esta estructura microporosa son su diámetro de poro menor de 2 nm y un área superficial muy alta de 500 a 1000 m²/g (por ejemplo la Zeolita Y~780 m²/g [62]) y su capacidad de hidratación reversible. Las zeolitas se pueden dividir en función de la fuente de origen:

- Zeolitas naturales: clinoptilolita, mordenita, etc., que dada la baja pureza con la que se las puede obtener y el hecho de que su

composición química esté fijada, su uso mayoritario queda relegado a aplicaciones como adsorbentes poco específicos [63].

- Zeolitas sintéticas [64,65]: cuya producción se inició en 1948 con la síntesis de la mordenita por Barrer [66,67] y Milton y Breck continuaron posteriormente con la zeolita A, X e Y [68]. Estas zeolitas tienen un marcado carácter hidrófilo, sin embargo también se han sintetizado zeolitas hidrófobas altamente silíceas: como la zeolita beta y la silicalita-1.

Las zeolitas también se pueden clasificar por su relación Si/Al, de manera que en general una mayor proporción de Si implica una mayor estabilidad química, térmica y una mayor hidrofobicidad (tabla 1.1).

Tabla 1.1.- Clasificación de las zeolitas atendiendo a su índice Si/Al

Baja de 1 - 1,5	Zeolitas A,X
Intermedia de 2 -5	Zeolitas naturales (Chabazita, clinoptilolita, erionita, mordenita)
Alta de 10 - 100	Zeolitas sintéticas y modificadas (mordenita y zeolita Y)
Infinita	Zeolitas sintéticas (silicalita y beta)

Las zeolitas se agrupan en un gran número de familias que comparten la misma estructura de red [69]. En las zeolitas la unidad estructural básica o "unidad primaria de construcción" es la configuración tetraédrica de cuatro átomos de oxígeno alrededor de un átomo central, generalmente de silicio y aluminio. Estos tetraedros se encuentran compartiendo sus vértices. Meier, en 1968, apoyándose en estudios cristalográficos, propuso una clasificación estructural de las zeolitas basada en la existencia de ciertas "unidades secundarias de construcción" [70]. Estos tetraedros (unidad primaria) se enlazan por sus átomos de oxígeno originando estructuras poliédricas que constituyen las estructuras secundarias. La estructura de red se forma por el ensamblado y/o acoplamiento de ciertas unidades de construcción secundarias que conducen a una gran variedad de estructuras zeolíticas, tanto naturales como sintéticas. En la figura 1.3 se muestran distintas zeolitas, con sus estructuras y diámetros de poros [71].

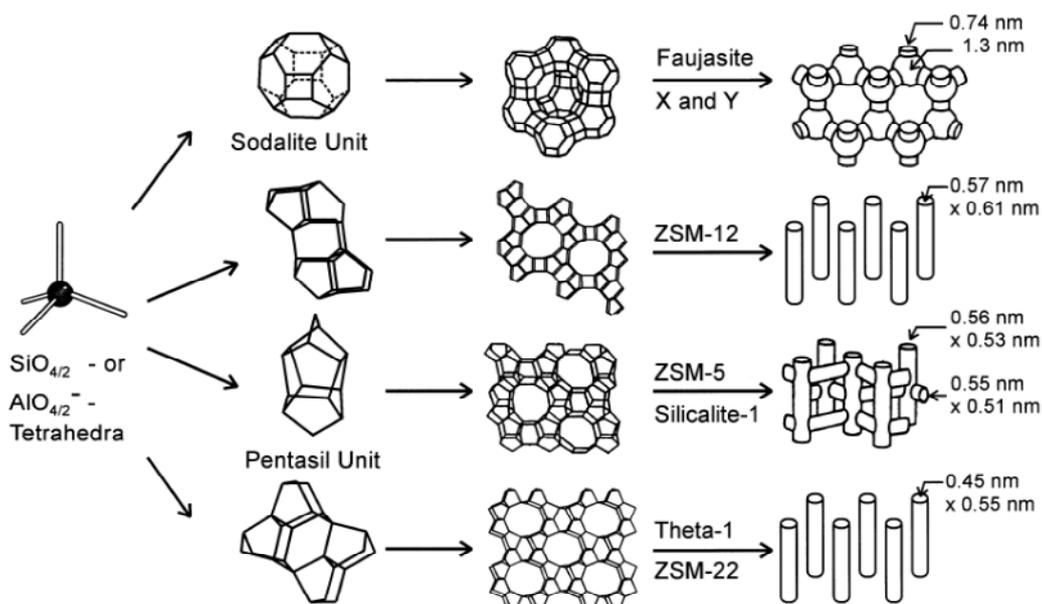


Figura 1.3.- Estructura de cuatro zeolitas y sus sistemas de dimensiones microporosas (de arriba a abajo: faujasita o zeolitas X, Y; zeolita ZSM-12; zeolita ZSM-5 o Silicalita-1; zeolita Theta-1 o ZSM-22 [71])

Los principales usos de las zeolitas a nivel industrial son las aplicaciones en catálisis, craqueo catalítico del petróleo (FCC), en la separación y purificación de gases y en procesos de intercambio iónico [71]. Sin embargo, las investigaciones actuales van encaminadas a nuevas aplicaciones a pequeña y micro escala [72,73]. La figura 1.4 muestra alguna de las aplicaciones de materiales zeolíticos en la micro escala.

De todas estas posibles utilidades emergentes de las zeolitas las asociadas al ámbito del recubrimiento y liberación de fármacos son las aplicaciones en las que se quiere focalizar el presente trabajo. Por ello se pretende conseguir un recubrimiento homogéneo de silicalita-1 sobre un sustrato de Nitinol para la liberación controlada de un fármaco (paclitaxel).

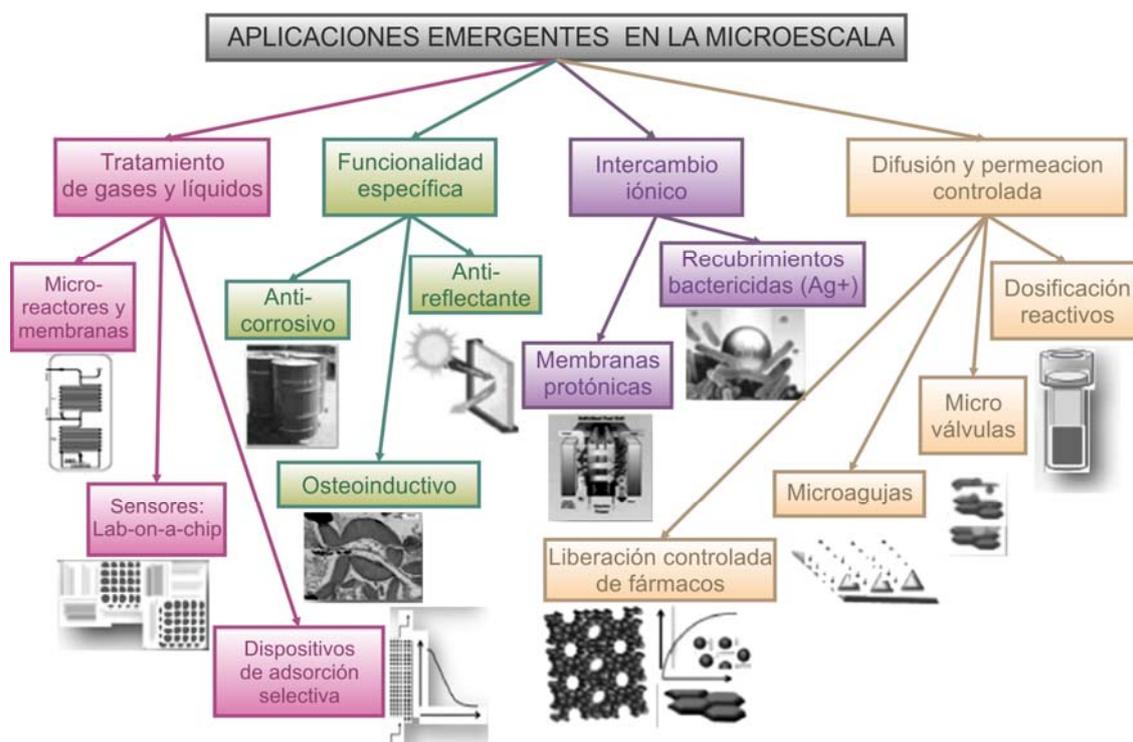


Figura 1.4.- Algunas aplicaciones de materiales zeolíticos en la microescala [73].

1.2.5. Materiales mesoporosos. Propiedades y aplicaciones

Los primeros materiales mesoporosos de sílice conocidos son la familia MS41: MCM-41 y MCM-48, que surgió por la necesidad de encontrar catalizadores con poros más grandes que los que ofrecían las zeolitas (< 1 nm) para poder craquear moléculas más voluminosas al igual que lo que se hacía con las zeolitas (zeolita Y) en fracciones del petróleo más ligeras [74].

Los materiales mesoporosos basados en MCM-41 (*Mobil Composition of Matter No. 41*) son silicatos obtenidos por síntesis hidrotérmal usando agentes estructurantes. Estos agentes son moléculas orgánicas que se autoensamblan produciendo estructuras micelares sobre las que polimerizan los silicatos presentes en la disolución precursora [75]. Las paredes de los canales de estas MCM-41 son de sílice amorfa y la porosidad puede alcanzar el 80 % del volumen total, con un ordenamiento hexagonal de los poros y diámetro de poro que puede cambiarse variando el agente estructurante que forma la micela (1,5 a 5 nm). Además, poseen una alta superficie específica ~1000 m²/g. Esta

estructura le confiere una gran estabilidad térmica, hidrotérmica e hidrolítica [75].

La figura 1.5 muestra un esquema representando las estructuras más significativas de la familia MS41:



Figura 1.5.- Diferentes estructuras de los materiales de la familia MS41. MCM-50 (laminar), MCM-41 (hexagonal) y MCM-48 (Cúbica) [75].

Los materiales mesoporosos, tipo MCM-48, tienen una estructura cúbica 3D que está formada por la intersección de poros longitudinales a lo largo de las tres direcciones del espacio. Su superficie específica es $\sim 1100 \text{ m}^2/\text{g}$ y el tamaño de poro está comprendido entre 2 y 5 nm [76].

En la búsqueda de poros más grandes, apareció otro material conocido como SBA-15 (*Santa Barbara Amorphous n°15*), con una estructura hexagonal parecida a la de la MCM-41 pero con un diámetro de poro de 4,6 a 30 nm [75], una superficie específica $\sim 700 \text{ m}^2/\text{g}$ [77], que se utilizó en biorrefinerías, para la producción de hidrógeno, apocinina, 1,2-propanodiol, gasolina, biodiesel y alcohol [78].

Otros materiales mesoporosos existentes son el SBA-16 (con ordenamiento de los poros centrado en el cuerpo), SBA-1 (estructura cúbica 3D), SBA 3, FDU-12, MSU y HSM (estructura hexagonal) [79].

Las principales aplicaciones de los materiales mesoporosos son para adsorción, separación, catálisis y polimerización controlada dentro de los poros

[75]. A partir de 2001, estos materiales han sido propuestos como candidatos a convertirse en sistemas de liberación de fármacos de manera controlada e incluso, también con el fin de utilizarlos como biomarcadores, soportes de enzimas y biosensores [80]. Por último, la capacidad de almacenar fármacos, factores de crecimiento u otras moléculas, hace que estos materiales estén siendo estudiados como materiales para el tratamiento y la recuperación de hueso dañado [81,82].

1.3. Liberación de fármacos en dispositivos para enfermedades cardiovasculares

En este apartado se va a tratar las distintas enfermedades cardiovasculares que existen, así como los distintos fármacos que se aplican en las terapias. También se pretende introducir el tema de los stents comerciales existentes, su evolución desde que aparecieron hasta el momento actual, como ha pasado de un simple stent metálico a concepto de stent liberador de fármaco e incluso stent bioerosionable o reabsorbible. Por último se tratarán mecanismos de recubrimientos utilizados en la actualidad, tanto orgánicos como inorgánicos.

1.3.1. Generalidades

Según la Organización Mundial de la Salud las muertes por enfermedades cardiovasculares pasarán de 17 millones en 2008 a 25 millones en 2030 [83]. Según la Clasificación Internacional de enfermedades de la OMS los grandes grupos de enfermedades que pueden afectar a nuestro sistema cardiovascular son las siguientes [84]:

- Fiebre reumática aguda
- Cardiopatías reumáticas crónicas
- Enfermedades hipertensivas incluyendo la eclampsia (hipertensión durante el embarazo)
- Cardiopatía isquémica (infarto de miocardio, angina de pecho)

- Enfermedad cardiopulmonar
- Otras enfermedades del corazón (arritmia e insuficiencia cardiaca...)
- Enfermedades cerebrovasculares (hemorragia, derrame, embolia, trombosis, apoplejía cerebral o ictus)
- Enfermedades de las arterias (aterosclerosis, arterioesclerosis, aneurisma, embolia y trombosis arteriales entre otras)
- Enfermedades de las vena (tromboflebitis)
- Malformaciones congénitas del sistema circulatorio
- Muerte súbita

Con 7 millones de muertes cada año, las enfermedades relativas a la arteria coronaria son la principal causa de muerte en el mundo. Se debe a la falta de sangre rica en oxígeno en el músculo del corazón producida por el estrechamiento de las arterias coronarias, normalmente debido al colesterol provocando un ataque cardíaco [85]. Esta acumulación se llama aterosclerosis.

De todas estas enfermedades cardiovasculares es la cardiopatía isquémica es en la que centra nuestra atención. La cardiopatía isquémica es un conjunto de trastornos que conllevan un desequilibrio entre el aporte de oxígeno y sustratos con la demanda cardiaca [86]. Es una enfermedad ocasionada por la arteriosclerosis y aterosclerosis de las arterias coronarias [87,88].

Arterioesclerosis: consiste en el endurecimiento y pérdida de elasticidad de la pared de las arterias de pequeño calibre.

Aterosclerosis: es el depósito e infiltración de sustancias lipídicas (colesterol, triglicéridos fundamentalmente) en las paredes de las arterias de pequeño y mediano calibre. Dicho síndrome provoca una reacción inflamatoria y la multiplicación y migración de las células musculares lisas de la pared que

van produciendo un estrechamiento de la arteria. La siguiente figura 1.6 muestra un esquema representativo de la progresión de la aterosclerosis.

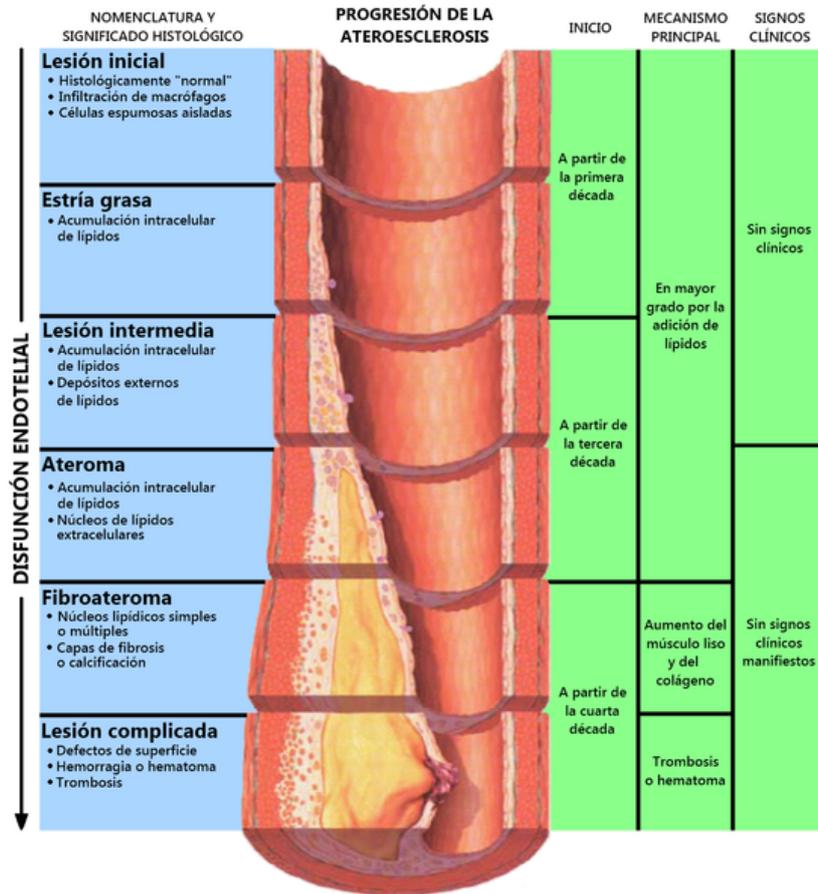


Figura 1.6.- Progresión de la aterosclerosis [87].

En un principio, las enfermedades cardiovasculares que consisten en la oclusión de una arteria, se trataban mediante la dilatación de la arteria, introduciendo un balón desinflado e hinchándolo en la zona donde era requerido para restaurar el flujo sanguíneo obstruido. Este tipo de operación mínimamente invasiva se conoce como angioplastia coronaria transluminal percutánea [89]. Actualmente, la cardiopatía isquémica se trata con la implantación de un stent coronario en la zona afectada. Un stent es un dispositivo pequeño expandible, normalmente de metal, que se coloca en el interior de la arteria coronaria para que se despliegue, abre el estrangulamiento y previene un nuevo cierre de la arteria [90]. La figura 1.7 muestra distintos tipos de stents.

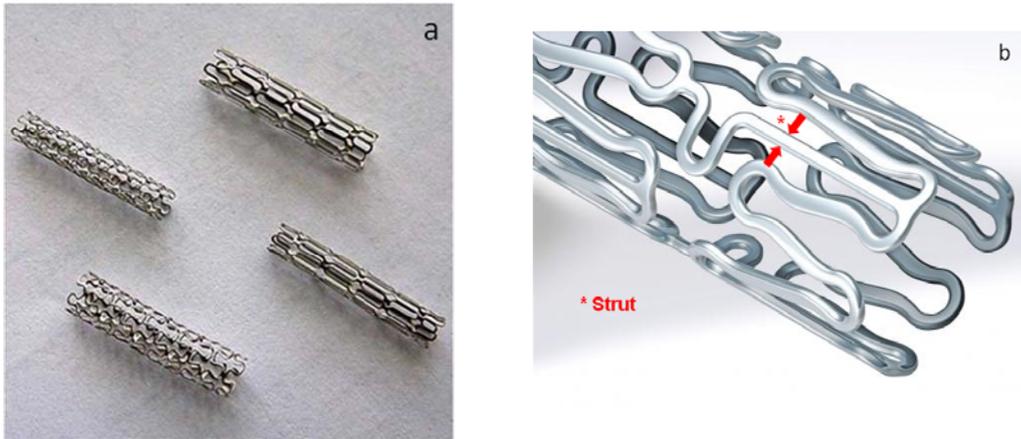


Figura 1.7.- a) Distintos tipos de stents [91]. b) Abbott's Xience V stent [92]

Desde que se empezó a implantar en 1987, la aparición del stent coronario supuso un gran avance en el tratamiento de la enfermedad coronaria y la cirugía vascular [89]. Existe una gran variedad de stents expuestos en la tabla 1.2 que están siendo utilizados actualmente, tanto metálicos como poliméricos [93,94] con despliegue por autoexpansión o por angioplastia con balón, pudiendo actuar permanentemente o de manera temporal debido a su bioerosión.

A pesar de las mejoras aportadas por la utilización de stents metálicos, su uso conlleva una serie de efectos secundarios sobre el sistema cardiovascular como son la *in stent restenosis* y la trombosis tardía o muy tardía [95].

In stent restenosis: la colocación del stent provoca unas heridas en el revestimiento endotelial de las paredes de la arteria lo que desencadena una serie de procesos en los que las plaquetas se adhieren sobre dicha superficie, lo que lleva finalmente a una nueva oclusión de la arteria [85].

Tabla 1.2.- Tipos de stents

Metálicos		Poliméricos		
Estables	Bioerosionables	Estables	Bioerosionables	Biológicos
Acero inoxidable 316L	Hierro puro	Tereftalato de polietileno	Poliortoéster	Fosforilcolina
Aleación de platino-iridio	Magnesio	Poliuretano	Policaprolactona	Ácido hialurónico
Tantalio		Silicona	Óxido de polietileno/ Polibutileno de tereftalato	
Titanio y sus aleaciones			Poliláctico-co-glicólico (PLGA)	
Aleación de cobalto-cromo			Ácido poliláctico (PLA)	
			Ácido poli-L-láctico (PLLA)	

Trombosis tardía o muy tardía: las trombosis tardía (> 30 días) o muy tardía (>12 meses) producidas por el stent son debidas a la acumulación, adhesión y activación de plaquetas y a la formación de fibrina en la zona del stent lo que provoca la aparición de trombos [96]. La ocupación total o parcial del lumen arterial por parte del trombo, impide el aporte de sangre necesario a los tejidos [84]. Aunque la trombosis tiene una baja incidencia del 0,5 al 2% [96], sus consecuencias pueden ser el infarto de miocardio y la muerte. La mortalidad debida a la trombosis producida por el stent es de un 45% [96].

Para tratar de evitar o tratar la restenosis se utilizaron técnicas como la angioplastia con láser, la aterectomía, el *cutting-balloon* o la utilización de un nuevo stent, sin excesivo éxito [97]. La principal causa del fracaso de la terapia farmacológica sistémica es la falta de capacidad de aportar la dosis adecuada de fármaco en la zona afectada [93]. La aparición en 2002 de los stents liberadores de fármacos (SLF), considerados como "stents de primera generación" supusieron otro avance en el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares permitiendo liberar el fármaco en la zona afectada y reduciendo la cantidad necesaria de éste. Los primeros stents liberadores de fármacos o farmacoactivos [43], estaban recubiertos con una película polimérica (no bioerosionables o bioestable) en la que se encapsulaba un fármaco capaz de inhibir la proliferación neointimal reduciendo de manera

considerable la restenosis [43,98,99] y la tasa de revascularización de la lesión tratada (RLT) con respecto a los stents metálicos convencionales [97,100].

Sin embargo aparecen problemas relacionados con la utilización de dichos recubrimientos poliméricos, tales como inflamación, nueva restenosis y trombosis tardía [101-105]. Por lo tanto, una de las prioridades en la medicina actual es la búsqueda y desarrollo de nuevos diseños de implantes de materiales destinados a resolver dichos problemas médicos. Los progresos de la cardiología intervencionista en el tratamiento de la cardiopatía isquémica están encaminados al estudio de las interacciones del stent con las paredes de las arterias para subsanar los efectos secundarios producidos por éste [43]. El trabajo de muchos grupos de investigación se enfoca en varias direcciones, en el desarrollo de nuevas estructuras, recubrimientos y en el desarrollo de nuevos fármacos.

1.3.2. Anti-inflamatorios, inmunosupresores, anti-proliferativos, anti-cuagulantes y anti-agregantes

Hoy en día, a estos implantes, como puedan ser los stents, no sólo se le exige que sea de fácil colocación mediante métodos poco agresivos como es la cirugía mínimamente invasiva o los caterismos [95,106, 107], sino que además tienen que ser "multifuncionales" como por ejemplo, que aporten estabilidad a la zona afectada y además liberen un fármaco en dicha zona [81,106,108,109]. Por último, también se les podría pedir a estos implantes que una vez acabada su función y liberado el fármaco, éstos sean reabsorbidos por el propio organismo, por ejemplo andamios vasculares reabsorbibles que liberan everolimus, un fármaco inmunosupresor utilizado para el rechazo de trasplantes [110].

El stent puede ser polivalente según los fármacos cargados en el soporte para su liberación controlada y pueden tener distintas aplicaciones terapéuticas, en distintos pacientes (diabetes) o en distintos momentos de la enfermedad (síndrome coronario agudo), con acciones sobre la inhibición de la

proliferación, anti-inflamatorias, anti-trombóticas, anti-placa, reparación celular, génica....

Los principales fármacos utilizados en los stents liberadores de fármacos son los anti-inflamatorios, inmunosupresores y anti-proliferativos.

Los anti-inflamatorios actúan sobre las heridas producidas por el stent durante la cirugía de implantación en la zona afectada por la estenosis. Los inmunosupresores evitan la respuesta inmunitaria del cuerpo y previene el rechazo del stent implantado y los anti-proliferativos, evitan la restenosis.

Los fármacos más utilizados en los stents liberadores de fármacos son el sirolimus, everolimus, zotarolimus, biolimus, tacrolimus, paclitaxel, pimecrolimus, 17-betaestradiol [43].

Además de estos fármacos están los anti-cuagulantes tales como la heparina, el Sintron y el curcumin que evitan la formación de fibrina y los anti-agregantes como la aspirina y la N-nitrosomelatonina que inhiben la agregación de plaquetas y por lo tanto la formación de trombos.

La figura 1.8. muestra el ciclo celular y el mecanismo de acción de los distintos fármacos.

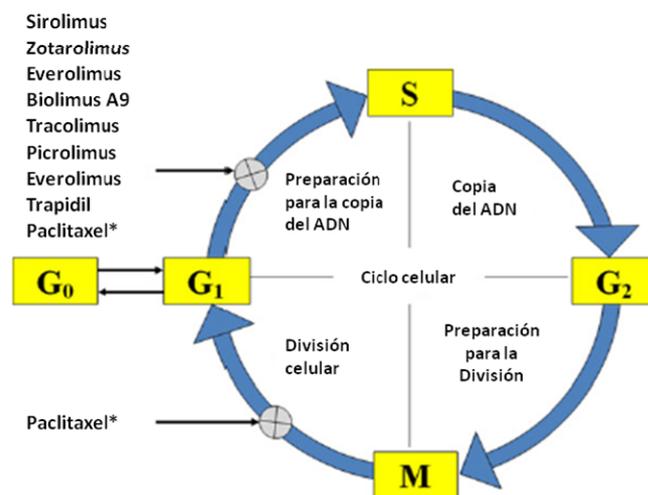


Figura 1.8.- Ciclo celular y mecanismo de acción de los fármacos. [43]. Completado con [111,112]

1.3.3. Recubrimientos de stents coronarios orgánicos

El tratamiento coronario percutáneo con SLF poliméricos está teniendo un impacto clínico y económico muy importante por número y tipo de pacientes tratados. En los recubrimientos poliméricos la difusión del fármaco es rápida ya que no está controlada por una estructura porosa. La difusión del fármaco se basa en el gradiente de concentración entre el fármaco contenido en el polímero y el tejido y uno de los problemas de esta forma de liberación es que retiene en el interior del recubrimiento entre el 75 y 92 % del fármaco disponible [43]. Los fármacos utilizados en la actualidad, paclitaxel, sirolimus y análogos [43,89,104,113,114], inhiben por distintos mecanismos la proliferación intimal durante las primeras semanas e incluso meses tras el implante. Una vez que el efecto de los fármacos ha finalizado y el polímero queda en contacto con las paredes de las arterias se producen los problemas antes mencionados [101-105]. Esto ocurre por ejemplo en los stents de primera generación Cypher™ [115] y el Taxus™ [116].

Para prevenir la trombosis tardía y la inflamación provocada por el polímero, aparecieron los "stents de segunda generación", en los que se optó por mejorar la interacción de los polímeros con el tejido, preparando polímeros duraderos más biocompatibles e incluso polímeros bioerosionables [43,89,104]. En este último caso la liberación del fármaco está controlada por la velocidad de degradación del polímero [43] y una vez que éste ha liberado toda la carga del fármaco, el polímero desaparece, evitando las posibles inflamaciones y trombosis tardía. Entre las opciones disponibles para el uso de recubrimientos no degradables y más biocompatibles están el Endeavor™ [43,89,105] y el Xience V™ (apartado 1.3.3.1) [43,89]. En cuanto a stents recubiertos por polímeros bioerosionables están el Excel™ y el Nevo™ (apartado 1.3.3.1) [89].

Uno de sus principales problemas detectados en los polímeros bioerosionables está relacionado con su degradación, por ejemplo, polímeros bioerosionables normalmente usados como portadores de fármacos, el PLA y PLGA, se ha comprobado que liberan productos ácidos durante su degradación (el ácido láctico y el glicólico) y éstos provocan efectos desfavorables en el

entorno [102]. La eficacia de estos “stents” recubiertos radica en su forma de liberar el fármaco encapsulado, que aunque actúa como supresor del crecimiento celular, que da lugar a la restenosis, por otro lado, al no existir una citotoxicidad selectiva conlleva una interferencia con la endotelización del stent [102,117]. Es decir, por un lado la matriz polimérica libera el fármaco e impide la proliferación de células del músculo liso, pero por otro también impide el crecimiento de células endoteliales y la incorporación con el paso del tiempo del stent a la pared arterial, preservándolo de la exposición a las plaquetas circulantes [118-120].

En vista de la problemática que existe actualmente, El desafío es conseguir una nueva generación de SLF que mantenga la eficacia antirestenótica de los SLF actualmente disponibles, pero que consiga la completa endotelización del stent a corto plazo.

Los stents de tercera generación son fruto de la mejora de las estructuras metálicas, y el desarrollo de nuevos polímeros más biocompatibles y bioerosionables aparecen los stents de tercera generación como el Orsiro Hybrid (Biotronik) [121,122], el stent Resolute Integrity que libera zotarolimus aprobado por la U.S Food and Drug Administration (FDA) [123], el stent Biomatrix™-BiolimusA9™ y el stent coronario Supralimus® [124] , EucataX [125,126] y el Promus Element™ Plus [127] (apartado 1.3.3.1).

Otros muchos stents recubiertos de polímeros bioerosionables como PLA, poli(n-butilo-metacrilato, poli-vinil-pirrolidona (PVP) aparecen en la literatura sobre distintos soportes (Nitinol, acero inoxidable, aleación de Co-Cr) distinto polímero, etc.) y con diferentes fármacos (sirolimus, biolimus A9, myolimus, paclitaxel, novolimus, etc.) [43,105,128,129].

Además de las combinaciones de diferentes materiales del stent y de los recubrimientos, la bibliografía también pone de manifiesto las diferentes técnicas utilizadas para conseguir las modificaciones superficiales del stent con el fármaco correspondiente. Algunos autores [130], utilizan la técnica de electrohilado para recubrir la superficie de un stent con nanofibras cargadas

con nanopartículas que contienen β -estradiol. Las nanofibras son una mezcla de polímeros (hexafluoro-2-propanol (HFIP), PLGA y PLA) y las nanopartículas son de polímero Eudragit S-100. El β -estradiol, previene la restenosis inducida por el stent mediante la generación de especies reactivas de oxígeno. Por otra parte otros autores [107] utilizan la combinación de PLGA con polietileno vinilo acetato (PEVA) para embeber paclitaxel y recubrir un stent mediante técnicas de pulverización por atomización ultrasónica. En el artículo [131] los autores depositan el copolímero metacrilato de metilo-co-ácido acrílico cargado con tacrolimus sobre la superficie metálica mediante la evaporación controlada a 25°C del disolvente que contiene el copolímero y el fármaco. Otros autores optan por la creación de una doble capa de polímeros bioerosionables como son el colágeno (la más externa) usando el método de *dip coating* y la interna formada por nanopartículas de PLGA cargadas de N-nitrosomelatonina (fármaco para evitar la acumulación de plaquetas) utilizando tanto la electroforesis como el *dip coating*. De esta manera se aprovecha que el colágeno es un polímero que está presente en las matrices extracelulares de cuerpo humano lo que proporciona una mayor biocompatibilidad [132].

En cuanto a la combinación de fármacos, algunos autores [133], utilizan el Trifusal (anti-trombótico) y el sirolimus (inmunosupresor) embebidos en un recubrimiento de polímero de PLGA, para recubrir por el método de pulverización un stent de aleación Cr-Co. De este modo se suma el efecto de ambos fármacos evitando la restenosis producida por el stent (in-stent) y la trombosis tardía. La combinación del sirolimus y ortovastin, este último con efecto estabilizador sobre los depósitos ateroscleróticos también se usan en un stent recubierto de PLLA preparado por un método de pulverización. En este caso, el sirolimus es liberado hacia las paredes de la arteria, mientras que el ortovastin es liberado hacia el interior [117].

Una alternativa a los stents con estructura estable es la fabricación de stents con polímeros o metales completamente reabsorbibles una vez acabada su función. En cuanto a los stents reabsorbibles poliméricos hoy en día se comercializa el BVSTM fabricado por Abbotb Vascular que consta de un andamio reabsorbible de PLLA recubierto de la mezcla racémica reabsorbible poli-D,L-

láctico (PDLLA) que contiene y controla la liberación de everolimus del mismo modo en que lo hace el stent XIENCE (apartado 1.3.3.1) [134]. Otro stent de este tipo es el BTI SES (Bioabsorbable Therapeutic Inc.) cuya matriz polimérica está formada por polilactida anhidra (PA) y ácido salicílico que libera sirolimus en la pared arterial. También existen stents fabricados en aleación de Mg recubierto de una matriz polimérica (PLGA) que libera paclitaxel DREAMS debido a la alta corrosión de la estructura de Mg [89,135]. Otros stents reabsorbibles en sus distintas etapas de fabricación y ensayos aparecen reflejados en la literatura [94].

Estudios comparativos entre stents bioerosionables y stents recubiertos de polímeros no degradables, han demostrado que los primeros al menos son tan buenos como los segundos a corto plazo, mientras que a largo plazo aún se están debatiendo sus prestaciones [136]. Entendiendo la eficacia de un stent como la eliminación de posibles lesiones durante la implantación del stent, la mejora de la revascularización de la zona afectada y disminución de la existencia de trombosis tardía y por lo tanto de la reducción del infarto de miocardio, el estudio comparativo entre el stent de primera generación Sirolimus-ES, dos stents de segunda generación Everolimus-ES, Zotarolimus-ES y el stent de polímero bioerosionable Biolimus-ES de la bibliografía existente, señala que el stent de polímero bioerosionable proporciona la misma eficacia que los stents de primera y segunda generación. Sin embargo, en cuanto a la seguridad, el stent de polímero bioerosionable es más seguro que los de primera generación pero menos que los stents de segunda generación. Por lo tanto son los stents de segunda generación los más seguros para la práctica clínica actual [137]. MiStents[®] SES (Micell Technologies, Inc.) son stents de cobalto-cromo que han sido recubiertos con PLGA cargado de fármaco (sirolimus) y probados en un ensayo en humanos para el tratamiento de lesiones en la arteria coronaria [138] mostrando que su comportamiento es tan bueno como los stents de polímeros duraderos de última generación o que los stents de polímeros bioabsorbibles. Esto puede ser debido a que las plataformas de cromo-cobalto permiten realizar struts más finos, lo que resulta en un menor daño arterial además de una reducción de riesgo de reestenosis, con menor trombogenicidad.

Otros autores [114], para evitar las reacciones inflamatorias producidas por los polímeros, tratan de recubrir los stents sin el uso de la matriz polimérica, utilizando en este caso recubrimientos orgánicos de multicapas de Heparina Duraflo™ y sirolimus. Dicho recubrimiento está realizado por pulverización *layer-by-layer* en la superficie abluminal del stent, consiguiendo así un efecto anti-trombótico e inmunosupresor a la vez.

Otra solución desarrollada es el uso de monocapas auto-ensambladas (SAMs) de su acrónimo en inglés *self-assembled monolayers*. Las SAMs son moléculas orgánicas formadas por un grupo principal, una cadena larga de hidrocarburos y un grupo terminal que determina su funcionalidad. Las SAMs quedan adheridas por su grupo principal a la superficie de un metal formando una monocapa de manera ordenada. De esta manera, el extremo libre es el grupo terminal que determina su funcionalidad. Utilizando esta solución, un stent de aleación de Co-Cr se recubre con ácido fosfónico con una terminación en ácido carboxílico para liberar paclitaxel [85]. Otros autores recubren superficies de oro con una mezcla de SAMs utilizando ácido 12-mercaptododecanoico y 1-nonanetiol, con el grupo funcional tiol, para enlazarse a moléculas de everolimus obteniendo así resultados prometedores para el recubrimiento de stents cardiovasculares [103].

La búsqueda de nuevos polímeros ha llevado a desarrollar polímeros con memoria de forma SMPs (de su acrónimo en inglés *shape-memory polymers*) análogos a las aleaciones de memoria de forma metálicas como la aleación equiatómica NiTi (ver apartado 1.2.1). Los SMPs son materiales que responden ante un estímulo y que tienen la capacidad de cambiar su forma ante un determinado estímulo. Estos materiales pueden ser fijados en una forma temporal determinada y recobrar su forma permanente debido a un estímulo externo. En aplicaciones biomédicas los más llamativos son aquellos que responden a un cambio de temperatura y más concretamente a la temperatura cercana a la del cuerpo humano [139]. En la búsqueda de estos nuevos polímeros, se ha desarrollado un copolímero bioerosionable con memoria de forma (PLG-PCL), constituido por la unión de polietilenglicol (PLG) y policaprolactona (PCL) mediante peróxido de benzoílo (POB). Este copolímero

puede pasar de una forma lineal a bajas temperaturas (15 °C) a una forma en espiral permanente a una temperatura cercana a la del cuerpo humano (40 °C). Con este material se ha fabricado un stent capaz de liberar mitomicin C (fármaco antiproliferativo) y curcumin (fármaco anticoagulante) [139]. Generalmente, los polímeros con memoria de forma están constituidos por dos elementos, un segmento de conmutación que proporciona flexibilidad al material y otro más rígido que "memoriza" la forma definitiva. En el caso del copolímero (PLG-PCL), las uniones formadas por el PCL mediante el POB se denominan segmentos rígidos y las cadenas que quedan libres son los segmentos de conmutación. La memoria de forma de este copolímero está íntimamente ligada a su composición y puede recobrar mejor y más rápidamente su forma permanente cuanto más elemento rígido posea en su estructura polimérica [139]. Otros stents fabricados con polímeros con memoria de forma han sido fabricados por Yakacki [140] utilizando tert-butilacrilato y el poli(etilenglicol) dimetacrilato, aunque con el inconveniente de que no son bioerosionables.

Además de la aplicación de estos materiales reabsorbibles, actualmente también existen hoy en día andamios reabsorbibles como nuevo paradigma de la terapia vascular reparativa [89,110,141]. Dichos andamios proporcionan la estabilidad mecánica durante un periodo de tiempo determinado y luego son absorbidos completamente por la pared vascular, evitando así inflamaciones o trombosis. Actualmente hay 16 tipos de andamios bioabsorbibles que están siendo desarrollados [141].

En resumen, los stents liberadores de fármacos representan una ventaja sobre los stents metálicos sin carga, reduciendo de manera considerable la restenosis producida tras su implantación. Sin embargo, la presencia de recubrimientos poliméricos permanentes provoca reacciones de hipersensibilidad e inflamaciones crónicas de las paredes de las arterias [85,114,117-120] además de la aparición de defectos mecánicos en el recubrimiento polimérico durante la expansión del stent [85]. La introducción de recubrimientos de polímeros bioerosionables, aunque soluciona muchos de los problemas clínicos incluida la disminución de la incidencia de la trombosis,

genera en su degradación la liberación de productos ácidos que inducen diversos grados de respuesta inflamatoria en las paredes de la arteria y su rápida degradación puede llegar a provocar una respuesta inflamatoria incontrolada y una necrosis de las células que rodean el implante [114,139]. Alguno de los polímeros bioerosionables utilizados para la fabricación de stents no son capaces de soportar los requisitos mecánicos necesarios a largo plazo para la función requerida y se rompen pudiendo provocar trombos e infartos [139]. Los polímeros también pueden hincharse y son susceptibles de ataques microbianos cuando son implantados *in vivo* [142]. Finalmente, otro gran inconveniente de la utilización de polímeros como sistemas de liberación de fármacos, radica en la aleatoriedad de la polimerización lo que conlleva una elevada variación en las propiedades físicas como el tamaño de poro, su distribución el grado de porosidad [142], lo que implica que la velocidad de difusión del fármaco no está controlada por una estructura porosa bien definida y ordenada. En los polímeros no bioerosionables, la velocidad de liberación del fármaco radica en el gradiente de concentración entre el polímero y la pared de la arteria [43], mientras que en los polímeros bioerosionables depende de la velocidad de degradación del polímero.

1.3.3.1. Sistema comercial stent-recubrimiento orgánico-fármaco

Los fármacos predominantes utilizados en los stents liberadores de fármacos y algunos de los stents comerciales que utilizan dichos fármacos son los siguientes [43]:

- ✓ **Sirolimus (Rapamicina):** con propiedades antiinflamatorias, inmunosupresoras y antiproliferativas. Empleado en los stens:
 - CYPHER™ : stent de primera generación que consiste en el recubrimiento de acero inoxidable 316 L SS con dos polímeros no bioerosionables como son el polietilenvinilacetato (PEVA) y el polibutímetacrilato (PBMA) portadores del fármaco [115].

- YUKON[®] Chrome^{DES}: es un stent libre de polímero donde el sirolimus puro está absorbido en la superficie microporosa de un stent de aleación de cobalto-cromo (Co-Cr) [143].
 - SUPRALIMUS[®]: (Comercializado por Sahajanand Medical Technologies) es un stent de acero inoxidable 316 L recubierto por una mezcla de tres polímeros totalmente bioerosionables ácido poliláctico (PLA), ácido poli (láctico-co-glicólico) (PLGA) y poli-vinil-pirrolidona (PVP) donde está embebido el sirolimus [124, 144].
 - FIREBIRD[™]: stent de acero inoxidable 316 L recubierto de tres capas, la primera de ella está formada únicamente por un polímero que sirve para recubrir el metal y asegurar la unión del fármaco al stent. La segunda contiene el sirolimus embebido en un polímero y la tercera es otro polímero que controla la velocidad de liberación del fármaco [145].
 - EXCEL[™]: stent fabricado en acero inoxidable y recubierto por un polímero bioerosionable (PLLA) que sirve como matriz al fármaco [89]
 - NEVO[™]: Es una estructura de aleación de Co-Cr L605 fabricada con la tecnología denominada Res Technology[™] que consiste en la formación sobre la superficie del stent de multitud de pequeños reservorios que están ocupados con ácido poliláctico-co-glicólico (PLGA) que sirve como matriz al fármaco [89, 146].
 - ORSIRO HYBRID: (fabricado por Biotronik), un stent de tercera generación de aleación de Co-Cr recubierto con una capa inerte llamada PROBIO (SiC) que impide la interacción entre la estructura metálica y el tejido que rodea al implante [121] mientras que el recubrimiento de polímero biocompatible llamado BIOlute (PLLA) es la matriz del fármaco sirolimus [122].
- ✓ **Everolimus (Certican[®])**: Este fármaco es un potente agente antiproliferativo e inmunosupresor, que aparece en los siguientes stents:

- XIENCE™ V de la aleación Co-Cr fabricado con una tecnología de multicapas poliméricas (polímero acrílico y fluoropolímero) [43,89,134].
 - PROMUS ELEMENT™ PLUS: fabricado por Boston Scientific Corporation, es un stent de tercera generación cuya estructura es de platino-cromo recubierto usando la misma tecnología que el Xience™ V [127].
- ✓ **Zotarolimus:** análogo sintético del Sirolimus que se emplea en los stents:
- ENDEAVOR™: Este stent de la aleación de Co-Cr pertenece a Medtronic vascular, Santa Rosa, CA, USA, de segunda generación está recubierto con co-polímeros fosfolípidos bioestables que sirven como matriz donde está embebido el fármaco [43, 89,105].
 - ZOMAXX™: stent de acero inoxidable+tantalio recubierto con un polímero, la fosforilcolina, en el que se introduce el fármaco [43, 147].
 - RESOLUTE INTEGRITY™: stent de aleación Co-Cr, recubierto por una mezcla de tres polímeros, al que llaman BioLinx, que contiene el fármaco [148]. El polímero hidrofóbico C10 (butilmetacrilato) actúa como reservorio del fármaco, la poli-vinil-pirrolidona (PVP) que es hidrofílica y favorece la biocompatibilidad y el polímero C19 (mezcla de monómeros de hexilmetacrilato, vinil-pirrolidona y acetato de vinilo) que mejora tanto la biocompatibilidad como la velocidad de liberación del fármaco [149,150].
- ✓ **Biolimus A9™:** Este fármaco presenta propiedades inmunosupresoras y anti-inflamatorias potentes, es muy lipofílico, se adsorbe rápidamente en el tejido e inhibe de manera reversible la proliferación celular [151]. Se emplea en los stents:
- BIOMATRIX™: (comercializado por Biosensor internacional) stent de acero inoxidable recubierto por la parte abluminal con el polímero

bioerosionable ácido poliláctico (PLA) donde se encuentra embebido el fármaco [43,128,152].

- BIOFREEDOM™: (comercializado por Biosensor internacional) comparte la misma estructura metálica que el BioMatrix™ pero sin recubrimiento polimérico, en este caso es el fármaco el que recubre la parte abluminal del stent [152].

- NOBORI®: Es un stent de acero inoxidable 316 L recubierto en su parte abluminal con el polímero bioerosionable PLA que contiene el fármaco [128].

- AXCESS™: A diferencia de los anteriores stents metálicos fabricados con acero inoxidable o Co-Cr, este stent es de la aleación de Ni-Ti (Nitinol) y está recubierto de ácido poliláctico en su parte abluminal. El fármaco se encuentra embebido en el polímero. Es un stent que se usa para zonas en donde existen bifurcaciones de las arterias [43,128,152].

- XTENT: stent de aleación Co-Cr con el fármaco embebido en ácido poliláctico que lo recubre [43,129].

✓ **Tacrolimus (Prograf®)**: es un fármaco inmunosupresor que es utilizado en el stent:

- JANUS®: Este stent con una estructura metálica de acero inoxidable presenta unos surcos que son llenados con el fármaco y posteriormente recubiertos con una película de *Carbofilm™* (carbón pirolítico) que es pasiva, previene la formación de trombos y garantiza la liberación dirigida solo hacia las partes de la pared vascular que requieren tratamiento [43, 153].

✓ **Paclitaxel (Taxol®)**: con propiedades antiproliferativas se emplea en los stents:

- TAXUS[®] Express 2[™]: stent de acero inoxidable 316 L de grado quirúrgico recubierto por un polímero bioestable que contiene el fármaco. El polímero tiene el nombre comercial de Translute o SIBS que es [poli(estireno-b-isobutileno-b-estireno)] [116,127].
 - TAXUS[®] Element[™]: igual que el anterior pero en este caso la estructura del stent es de platino-cromo [127]
 - PICO^{Elite}: estructura del stent de Co-Cr recubierta por un polímero bioestable como es la polisulfona donde está embebido el fármaco [43,154].
 - COROFLEX[®] Please: stent de acero inoxidable libre de polímero recubierto por el fármaco directamente [43,155].
 - INFINIUM[®]: stent de acero inoxidable 316 L completamente recubierto de una matriz polimérica bioerosionable, de unos 5 - 7 µg, en la que se encuentra embebido el fármaco. La matriz polimérica está formada por PLA, ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA), policaprolactona (PCL) y polivinilpirrolidona (PVP) [128,144].
 - EUCATAX: Eucatech AG comercializa el stent que consiste en una estructura de acero 316 LVM con un recubrimiento de Camouflage[®], que imita el tejido extracelular polimérico conocido como glicocálix, que es antitrombótico y otro recubrimiento exterior polimérico de PLGA donde está incorporado el paclitaxel [125, 126].
- ✓ **Pimecrolimus:** es un agente inmunosupresor y un potente anti-inflamatorio. Es un fármaco selectivo, que inhibe la proliferación de células del músculo liso pero no inhibe el crecimiento de células endoteliales y por lo tanto no impide la re-endotelización. Se utiliza en diversos stents comerciales como son:
- CORIO[™]: stent de aleación Co-Cr recubierto del copolímero PLGA donde se encuentra embebido el fármaco [43].

- SYMBIO™: el stent de Co-Cr incorpora pequeños agujeros que sirven de reservorios para introducir el polímero PLGA cargado de fármaco. Este stent en particular, además de pimecrolimus incorpora paclitaxel [43,156].

- PROGENIC™: stent fabricado en aleación de Co-Cr, recubierto por una capa pasiva de carburo de silicio (SiC), donde la matriz polimérica bioerosionable portadora del fármaco es de PLA [43,157].

- ✓ **Trapidil:** es un agente vasodilatador y antiplaquetario con efectos anti-proliferativos de las células musculares lisas y anti-inflamatorio. Este fármaco se utiliza con el stent:
 - INTREPIDE™: stent de acero inoxidable 316 L recubierto por el fármaco. Sobre el recubrimiento del fármaco se deposita a temperatura ambiente (para no dañar el fármaco) una capa polimérica (3,5 μm espesor) conocida como parileno C (poli(p-xilileno) para controlar la liberación del fármaco [43,158,159] .

- ✓ **17-betaestradiol:** mejora el proceso de reparación vascular favoreciendo la endotelización, reduce la migración de las células de músculo liso. Este fármaco es utilizado en el stent:
 - X-CELL™ de acero inoxidable recubierto de un polímero bioestable (Bravo®) mezcla de polietilvinilacetato y polibutimetacrilato (PEVA/PBMA) que sirve como matriz para el fármaco.

1.3.4. Recubrimientos inorgánicos. Aplicaciones

Una vez observadas las desventajas de los recubrimientos poliméricos y, sobre todo, como se ha mencionado anteriormente, que la velocidad de difusión del fármaco no es fácilmente controlable, toma especial interés la investigación de nuevos sistemas de liberación de fármacos desde stents basados en recubrimientos inorgánicos que pueden ser porosos y no porosos. Estos stents deben cumplir que sean altamente biocompatibles, que no causen

inflamación, que no induzcan respuestas alérgicas o de hipersensibilidad, que no sean trombogénicos tanto a corto como a largo plazo, que acepten cargas de distintos fármacos solos o en combinación, y que liberen la carga hacia la pared del vaso de forma controlada, predecible y programable. El carácter inorgánico del recubrimiento introduce algunas de estas propiedades que no pueden proporcionar los recubrimientos poliméricos.

Otros requerimientos son que mecánicamente el soporte liberador del fármaco debe estar firmemente adherido al stent, debe ser resistente a los procesos de esterilización, no debe desestructurarse al pasar por el catéter guía y el vaso coronario hasta el punto del implante y no debe romperse o cuartearse al expandirlo para impactarlo contra la pared arterial coronaria, especialmente en lesiones de alto contenido cálcico.

Para cumplir estas exigencias la investigación en este campo aborda esta problemática desde diferentes enfoques:

1º) Recubrimiento del stent para protegerlo de la interacción con el tejido que lo rodea, mediante una capa inorgánica no porosa más biocompatible que el propio metal para así prevenir y eliminar la lixiviación de iones metálicos.

2º) Utilización del propio strut del stent como reservorio de fármacos.

3º) Recubrimiento del stent con un material inorgánico poroso que sirva como matriz para portar y aprovechar su estructura porosa ordenada y liberar el fármaco de manera controlada.

Entre los recubrimientos no porosos utilizados en aplicaciones médicas en general y de los stents en particular están los recubrimientos de carbono denominados tipo diamante (DLC) de su acrónimo en inglés *diamond-like carbon* característicos por su bajo rozamiento, desgaste, generación de pocas partículas y con un potencial uso en prótesis de articulaciones. Este tipo de recubrimientos parecen ser beneficiosos también para evitar lixiviación de iones metálicos y para evitar la formación de trombos en aplicaciones vasculares

[10]. Incluso recubrimientos con grafeno (una lámina de un átomo de carbono de espesor), se han utilizado para recubrir stents de Nitinol para mejorar tanto la biocompatibilidad como la hemocompatibilidad, consiguiéndose unos buenos resultados [11]. El Stent PRO-kinetic comercializado por Biotronik AG, Suiza [160], fabricado en aleación Cr-Co utiliza un recubrimiento (PROBIO[®]) de 80 nm de SiC (amorfo) que recubre el strut del stent disminuyendo la lixiviación de iones metálicos de la superficie metálica, reduce la adherencia de los leucocitos, la formación de trombos, mejora la endotelización y previene la proliferación celular del músculo liso [13,14]. Este tipo de recubrimientos ya ha sido probado clínicamente obteniendo unos buenos resultados gracias al desarrollo rápido de una capa endotelial funcional [161]. El stent Orsiro (apartado 1.3.3.1) también utiliza un recubrimiento de SiC que sirve como sustrato para el polímero bioerosionable PLLA, matriz del fármaco sirolimus [14,121,122]. Otros autores modifican la superficie de stents de Ti generando una superficie de TiO₂ mediante un proceso hidrotermal, que previene la formación de trombos y promueve la endotelización [162]. También hay trabajos en los que un stent comercial de acero inoxidable 316 L Humed Core[®] se recubre con una fina capa de TiO₂ dopado con nitrógeno mediante deposición química de vapor mejorado por plasma PECVD (de su acrónimo en inglés *plasma enhanced chemical vapour deposition*). Posteriormente a esta capa se une heparina y abciximab que es un anticuerpo monoclonal utilizado en el tratamiento de enfermedades cardiovasculares para evitar la agregación de plaquetas y ácido lipóico [163,164].

Otra solución utiliza el propio stent como reservorio del fármaco. En este caso, mediante un tratamiento mecánico, se realizan sobre la superficie del strut de acero inoxidable 316 L numerosos poros de un diámetro medio de 400 nm que posteriormente se llenan de sirolimus. Este tamaño de poro es suficientemente grande como para permitir una fácil absorción del fármaco y tan pequeño como para evitar problemas debido al aumento de la rugosidad de la superficie del stent [15]. Otros autores, al igual que los anteriores, utilizan stents de acero inoxidable 316L en cuya superficie abluminal realizan poros de 400 nm donde introducen sirolimus, pero además, en la parte luminal inmovilizan anticuerpos anti-CD34 que sirven para la captura de células

precursoras de la endotelización, obteniendo un doble efecto deseado, por un lado con propiedades anti-inflamatorias, inmunosupresoras y antiproliferativas del sirolimus y por otro una endotelización más rápida [16]. Incluso la misma degradación del stent metálico proporciona el efecto bactericida, como por ejemplo, los stents metálicos bioerosionables como la aleación de Mg-Zn-Ag, donde la plata es utilizada porque mejora las propiedades mecánicas y además tiene un doble efecto anti-inflamatorio y bactericida durante la degradación del stent [22]. Otros ejemplos que aparecen en la literatura [17] utilizando el propio stent como reservorio de fármaco están indicados en la tabla 1.3.

Tabla 1.3.- Stents liberadores de fármacos utilizando el propio stent como reservorio de fármacos

Nombre	Empresa	Fármaco	Metal de la matriz
Yunkon	Tranlumina	Disolución de 2% Sirolimus	Acero inoxidable 316 L
BioFreedom	Biosensor Interventional	Biolimus	Acero inoxidable 316 L S-stent
Janus	Sorin Biomedica Cardio	Tacrolimus	CarboStent (película ultrafina de carbón pirolítico)
Genous Bioengineering R-stent	OrbusNeich	Anticuerpos* CD34	CoCr Acero inoxidable 316 L

*No es un fármaco, pero recubre el stent para favorecer la endotelización

La hidroxiapatita, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$, es una de las formas biocompatibles más estables del fosfato de calcio, con una estructura parecida al mayor componente inorgánico de huesos y dientes [4]. Los recubrimientos de hidroxiapatita sobre stents se utilizan para aprovechar su estructura porosa para la liberación de fármacos. Se ha estudiado que los recubrimientos de hidroxiapatita, incluso con bajas dosis de sirolimus, no provocan un incremento en la activación de las plaquetas en la circulación del flujo sanguíneo humano o en la adhesión de plaquetas sobre el stent comparados con stents metálicos [9]. Keady y col. [165] recubren stents de Nitinol utilizando un método de doble chorro de polvo sobre la superficie a recubrir, uno de ellos es apatita abrasiva compuesto de fosfatos de calcio sintetizados de 106 - 180 μm y el otro dopante, es un compuesto de hidroxiapatita de 5 - 60 μm , de tal modo que se consigue recubrir la superficie del Nitinol con un recubrimiento de hidroxiapatita

homogéneo y resistente mecánicamente. Stents de acero inoxidable 316 L recubiertos con hidroxiapatita y cargados con bajas dosis de sirolimus o sin él, también son comparados con stents poliméricos comerciales demostrando su seguridad y consiguiendo una completa endotelización del stent a corto plazo [166].

Recubrimientos de SiO_2 no porosos sobre acero inoxidable, mediante técnicas como *dip coating*, electrodeposición o deposición de una capa atómica, también son utilizados para mejorar la resistencia a la corrosión y evitar la lixiviación de iones metálicos así como para actuar de interfase para la fijación al metal de carbohidratos biológicamente relevantes como son el N-acetil-D-glucosamina (bastante común en el tratamiento de artritis y artrosis) y el D-galactosa [167].

Por otro lado, los materiales inorgánicos silíceos porosos, además de ser biocompatibles, son químicamente inertes y capaces de actuar como depósitos de fármacos dada su estructura porosa capaz de albergar distintos medicamentos [168]. Dicha porosidad permite liberar el fármaco de manera controlada, ya que el tamaño de los poros es seleccionable, de manera que se ajuste la velocidad de difusión del fármaco a un valor deseado. Materiales mesoporosos como MCM-41 y SBA-15 han sido estudiados con unos resultados previos positivos como posibles portadores de heparina para su posterior liberación controlada en dispositivos vasculares [169,170].

Las aplicaciones de liberación de fármacos desde dispositivos recubiertos por materiales inorgánicos no se limitan a la restenosis coronaria, sino también a situaciones clínicas en las que se desea suministrar un fármaco en una localización particular de una vena, arteria, cavidad del cuerpo humano o tejido. Recubrimientos de materiales mesoporosos tipo LMU-1 o KIT-1 han sido utilizados para recubrir prótesis auditivas (Bioverits® II) para la recuperación del oído medio, otra aplicación de su estructura porosa consiste en liberar un fármaco, el ciprofloxacino, para evitar infecciones por la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* en el oído medio y factores de crecimiento del hueso para favorecer la unión del oído medio con el oído interno [171].

En la literatura, se proponen recubrimientos con dos capas mediante electroforesis de stents de acero inoxidable 316L. La primera de ellas está constituida por nanotubos de carbono que sirve de base a una segunda capa funcional, formada por nanotubos de carbono y nanopartículas mesoporosas magnéticas de sílice de 50 nm de diámetro cargado de sirolimus [172]. En otro trabajo se recubre una aleación de Ti-35Ni-2Ta-3Zr con nanotubos de TiO₂ con el fin de aumentar su resistencia a la corrosión, y como reservorio de fármacos [173]. Otros autores [174] recubren stents coronarios de acero inoxidable 316 L con una capa inorgánica nanoporosa de Al₂O₃ que sirve como portadora de un fármaco inmunosupresor como es el tacrolimus y observan una reducción significativa en la formación de neointima y en la respuesta inflamatoria.

1.4. Sistemas de liberación de antibióticos en cirugía ortopédica y traumatología

En este apartado se pretende tratar de los distintos tipos de infecciones que pueden afectar a los huesos y las articulaciones, de los antibióticos que se utilizan para su tratamiento y de las distintas propuestas médicas de liberación de fármacos en cirugía ortopédica y traumatología tanto para evitar dichas infecciones como para mejorar la regeneración ósea.

1.4.1.- Generalidades

Las infecciones en huesos y articulaciones son potencialmente mortales, están asociadas a una discapacidad a largo plazo y a una reducción en la calidad de vida. La proporción de enfermedad iatrogénica causada por las prótesis articulares fallidas está aumentando anualmente [83]. Las principales infecciones que afectan a huesos y articulaciones son la osteomielitis, la artritis séptica y la infección de las prótesis de articulaciones después de su implantación.

La osteomielitis se produce cuando la bacteria coloniza el hueso que es un tejido normalmente estéril. Esta infección puede deberse a la inoculación directa de una bacteria durante un traumatismo u operación.

Se define *biofilm* como una comunidad o colonia de células adheridas a un sustrato o interfaz que están embebidas en una matriz polimérica de polisacárido [175]. Los microorganismos que forman esta estructura presentan mayor resistencia a los antibióticos [175] hasta 1000 veces más resistentes que cuando están aisladas [176]. La formación de un *biofilm* puede ocasionar que la infección se vuelva crónica y difícilmente tratable únicamente con antibióticos, por lo que hay que apoyarse en otro tratamiento adicional como puede ser el desbridamiento quirúrgico (extirpación o eliminación del tejido infectado mediante cirugía) [177].

La *artritis séptica* es una infección que se produce en las articulaciones, la más común en la rodilla, que va acompañada de dolor, inflamación y reducción en el movimiento de ésta. Entre otras causas, esta enfermedad puede producirse tras una operación quirúrgica. Para su tratamiento es necesario un lavado artroscópico y si la articulación es una prótesis, el lavado artroscópico va acompañado de un tratamiento con antibióticos [177].

Las *infecciones de prótesis articulares* son infecciones producidas tras la implantación de una prótesis. Se puede distinguir entre "temprana" (<3 meses tras el implante) producida directamente por una infección durante la operación quirúrgica, "retardada" (3-24 meses tras la cirugía) acompañada de la aparición de *biofilm* y "tardía" (> de 24 meses), en este último caso, la sangre ha transportado una infección que se encuentra en otra parte del cuerpo. Para el tratamiento de las infecciones de prótesis articulares la cirugía es inevitable. Es necesaria una limpieza de tejido muerto e infectado que rodea la prótesis (desbridamiento) y un tratamiento con antibióticos, sobre todo aquellos capaces de penetrar en el *biofilm* [177], incluso también puede optarse por la retirada de la prótesis y su re-implantación [178].

Existen varios microorganismos causantes de estas tres infecciones que pueden afectar a los huesos, articulaciones y prótesis, pero el microorganismo común a ellas es el *Staphylococcus aureus* [177].

El *Staphylococcus aureus* o comúnmente estafilococo dorado, es una bacteria anaerobia facultativa, grampositiva, productora de coagulasa, catalasa, inmóvil y no esporulada que se encuentra ampliamente distribuida por todo el mundo, estimándose que una de cada tres personas se hallan colonizadas, aunque no infectadas por ella [179]. Es una de las principales causas de infección de la sociedad y sobre todo en las hospitalarias (nocosoidales) lo que junto al aumento de su resistencia a los antibióticos provoca un aumento de la preocupación social [180]. El *S. aureus* puede comportarse como un organismo huésped o como un patógeno, siendo la mucosa nasal del ser humano su principal sitio de colonización [180].

El *S. aureus* tiene la capacidad de unirse al factor von Willebrand, una proteína presente en zonas dañadas del endotelio y por lo tanto puede causar enfermedades vasculares, incluso tiene la capacidad de unirse a biomateriales y formar *biofilm* [180]. La figura 1.9 muestra una imagen de microscopía electrónica de la bacteria *S. aureus*.

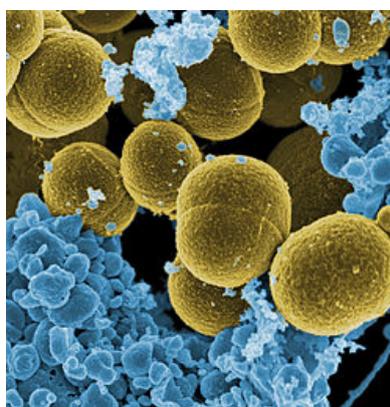


Figura 1.9.- Bacteria *S. aureus* escapando de la destrucción por leucocitos humanos [179].

Color artificial.

El *S. aureus* es capaz de segregar toxinas que crean poros en la membrana celular, responsable de la lisis celular (vaciado del contenido de la célula y por lo tanto su muerte). En 1940, con la aparición de la penicilina, se consiguió atacar todas las cepas de *S. aureus*, aunque posteriormente en 1944, empezaron a aparecer informes de cepas resistentes a las penicilinas naturales y aminopenicilinas [181,182]. Con el tiempo, han ido apareciendo cepas resistentes a los antibióticos utilizados como la meticilina (MRSA *methicillin-resistant S. aureus*), con resistencia intermedia a vancomicina (VISA

Vancomycin-Intermediate S. aureus) y con resistencia a vancomicina (VRSA *Vancomycin-Resistant S. aureus*) [179]. En definitiva, el *S. aureus* ha desarrollado una serie de métodos para evadir el sistema inmune del ser humano, como puede ser la modificación de su superficie para evitar ser reconocido, liberación de toxinas para matar células del sistema inmune, la producción de exopolímeros que dificultan la fagocitosis y posibilidad de sobrevivir incluso dentro de otras células como los fagocitos [180] que hace de él la causa de infección nosocomial más importante de hoy en día.

1.4.2.- Antibióticos

Un antibiótico es una sustancia química producida por un ser vivo o derivado sintético que mata o impide el crecimiento de cierta clase de microorganismos sensibles, generalmente bacterias [183]. Un antibiótico puede impedir el crecimiento de las bacterias y se dice que es bacteriostático, y si puede matarlas, se dice que es bactericida [184, 185]. Un antibiótico puede actuar como bacteriostático o bactericida dependiendo de la bacteria contra la que actúa [185].

En las medidas de la actividad de un antibiótico se puede distinguir entre [185,186]:

- MBC (de su acrónimo en inglés *minimum bactericidal concentration*): Es la concentración mínima de antibiótico necesaria para matar las bacterias.
- MIC (de su acrónimo en inglés *minimum inhibitory concentration*): Es la concentración de antibiótico mínima para conseguir la inhibición del crecimiento de las bacterias.

Los antibióticos tienen distintas formas de acción para matar o inhibir el crecimiento de las bacterias [187,188], pueden atacar la pared bacteriana, la membrana bacteriana, la síntesis de proteínas o la síntesis de ácidos nucleicos. La pared bacteriana es una capa rígida situada en el exterior de la membrana

bacteriana y la membrana bacteriana es una bicapa lipídica que delimita todas las células, está formada por fosfolípidos, glicolípidos y proteínas que rodea, limita, da forma y contribuye a mantener el equilibrio entre el interior (medio intracelular) y el exterior (medio extracelular) de las células. Entre los antibióticos más utilizados y estudiados en el desarrollo de dispositivos de liberación de fármacos en el tratamiento de infecciones del hueso están:

- Isoniazida, vancomicina y cefazolina que inhiben la síntesis de la pared bacteriana.
- Doxiciclina y linezolid que inhiben la síntesis de proteínas.
- Rifampicina actúa sobre el proceso de transcripción del ADN.

Otros antibióticos y sus mecanismos de acción se muestran en la figura 1.10.

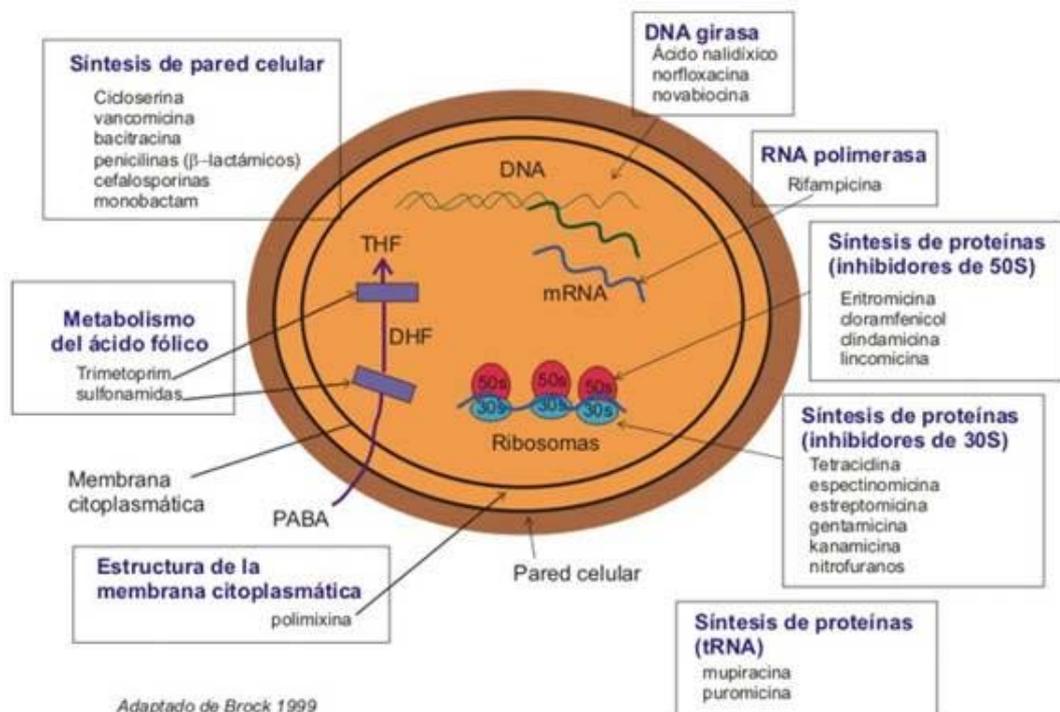


Figura 1.10.- Tipos de antibióticos y sus blancos. [189]. DHF= ácido dihidrofólico. THF= ácido tetrahidrofólico PABA=ácido para-amino benzoico. Adaptado de [190].

1.4.2.1. Linezolid

El linezolid pertenece al grupo de los antibióticos de las oxazolidonas, que se une a la subunidad 50S del ribosoma (figura 1.8), inhibe la formación del complejo de iniciación y evita la traducción y síntesis de proteínas. Este mecanismo de acción limita la resistencia cruzada con otros inhibidores de síntesis de proteínas y por lo tanto hacen del linezolid un fármaco atractivo para tratar infecciones que son resistentes a otros fármacos. Por este motivo, el linezolid ha sido elegido como antibiótico en el presente trabajo. El linezolid ha sido aprobado por la FDA para el tratamiento de cepas sensibles de algunos microorganismos como puedan ser bacterias resistentes Gram-positivas, para neumonía nosocomial y para infecciones de la piel. Las bacterias fármaco-resistentes Gram-positivas para los que se emplea el linezolid pueden ser, entre otras, *S. aureus* resistente a la meticilina, *Streptococcus pneumoniae* resistente a fármacos y el *enterococci* resistente a la vancomicina [191].

También se usa, aunque no ha sido aprobado para ello, para el tratamiento de de la tuberculosis resistente a otros fármacos, por ejemplo en pacientes infectados con *Mycobacterium tuberculosis* resistentes tanto a la rifampicina y a la isoniacida (MDR-TB: de su acrónimo en inglés: *Multidrug-resistant tuberculosis*) o también infectados con *Mycobacterium tuberculosis* resistente tanto a la rifampicina, isoniacida, fluoroquinolona y uno de los fármacos inyectables de segunda línea (amikacina, kanamicina o capreomicina), (XDR-TB: de su acrónimo en inglés: *Extensively drug-resistant tuberculosis*) [192].

1.4.3. Dispositivos para cirugía ortopédica y sus aplicaciones actuales para la liberación controlada de fármacos

A pesar de los avances logrados en cirugía ortopédica, de los niveles de esterilidad en los quirófanos y de los desarrollos en profilaxis con antibióticos parenterales, las infecciones bacterianas continúan siendo una de las principales complicaciones después de realizar un implante. Las infecciones profundas posteriores a una artroplastia de una articulación es una complicación devastadora, con una incidencia del 0,5 - 3 % actual y que para el

2030 se espera que alcance el 6,8 %. La revisión de este tipo de infecciones conlleva una cirugía cuyos costes directos están estimados en 55000 \$ por caso [193]. La infección de los huesos (osteomielitis) y articulaciones (artritis séptica) sin un tratamiento inmediato puede convertirse en crónica cuando el *biofilm* bacteriano no se elimina por completo.

La lucha contra la formación de *biofilm* e infecciones en cirugía ortopédica, intenta reducir las tasas de infección a niveles tolerantes, aunque no deseables. Así por ejemplo en el caso de la cirugía de cadera se pretende alcanzar una tasa de infección menor del 1 %; para otras articulaciones esta tasa es mayor debido a su proximidad a la superficie de la piel y a una experiencia más limitada en el diseño de prótesis [194], por ejemplo 2,5 % en prótesis de rodilla [195], 1,3 % en prótesis de hombro [196], en reconstrucciones de la parte proximal de la tibia 0 - 13 % [197] y para las fracturas de húmero 1 - 2 % fracturas cerradas y 2 - 5 % para fracturas abiertas [198] ya que las fracturas abiertas van acompañadas, frecuentemente, de contaminación bacteriana. En algunos de estos casos se utilizan dispositivos de fijación, ya sean externos como marcos de Ilizarov, tornillos de Schanz, etc. o internos (clavos intramedulares, placas, etc.) para darle estabilidad al proceso de consolidación de la fractura.

Los dispositivos ortopédicos de fijación externa utilizados para traumatología o para la reconstrucción del hueso se colocan externos al cuerpo y se conectan al mismo a través de clavos, figura 1.11. La conexión a través de la piel y el tejido puede ser un punto de partida fundamental para la invasión bacteriana como se ha comentado anteriormente.

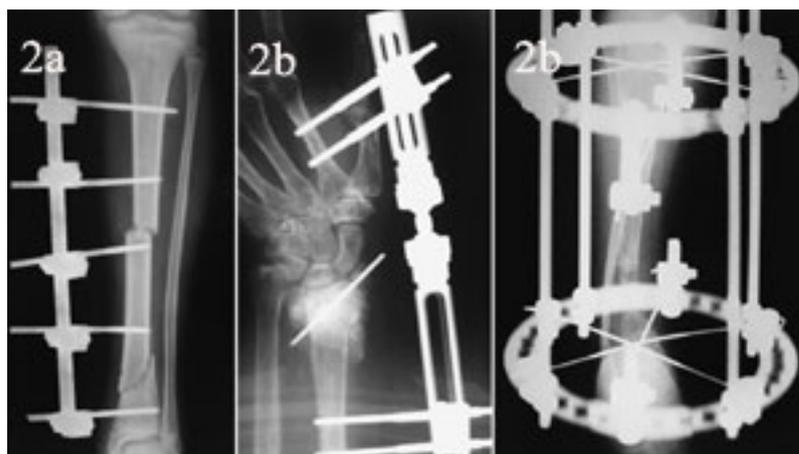


Figura 1.11.- a-c. Fotografía de Rayos X mostrando fijadores externos. a) Uniplanar. b) Uniplanar articulado. c) Externo anular (Ilizarov) fijando una fractura infectada de la tibia [199].

Por lo general, se realiza un cuidado diario de los clavos y de la zona involucrada en la cirugía con alcohol isopropílico, eliminando las costras y el líquido del propio edema. De esta manera, se proporciona una atención adecuada [200]. Sin embargo, incluso así, pueden existir zonas del clavo y del tejido que lo rodea que persisten sin cicatrizar debido a la presencia de infecciones [201]. Por lo que tanto, la traumatología como la cirugía ortopédica pueden beneficiarse potencialmente del uso de dispositivos y de sistemas de fijación internos o externos liberadores de fármacos *in situ* que ayuden a prevenir la infección bacteriana proporcionando concentraciones locales de un antibiótico al menos por encima de la concentración inhibitoria mínima (MIC), pero por debajo del umbral toxicológico sistémico.

Una posible solución que aparece en la bibliografía sería el recubrimiento de estos sistemas de fijación internos y externos. En esta línea se ha utilizado el colágeno, que es un polímero natural, como recubrimiento de titanio. Mediante deposición electroquímica se ha obtenido un recubrimiento de capas delgadas de colágeno mineralizado donde se han incorporado nanoesferas de quitosano cargadas de clorhidrato de vancomicina para mejorar su poder antibacteriano, probado con éxito frente al *S. aureus* [202]. También se ha utilizado el método de polimerización por plasma para recubrir sustratos de vidrio con una capa polimérica de 100 nm de n-heptilamina, donde han sido embebidos iones plata que posteriormente han sido reducidos a nanopartículas

de plata con un elevado poder antibacteriano. Los ensayos realizados han demostrado que con dicho recubrimiento se reduce en un 100% la formación de colonias bacterianas, indicando que este recubrimiento puede aplicarse a cualquier material o dispositivo médico [203].

Otros tipos de dispositivos, utilizan técnicas de microfabricación *top-down* para crear membranas de silicio en depósitos cilíndricos huecos de una aleación de titanio, de tal manera que utilizan la membrana con una ventana para la liberación controlada del fármaco previamente encapsulado en el interior del depósito [204].

Debido a la mala vascularización del hueso, la concentración local de antibióticos que se puede alcanzar en él es baja cuando se aplican de manera sistémica. Para solucionar este inconveniente, la liberación local de antibiótico desde cementos óseos basados en polimetilmetacrilato (PMMA) ya fue propuesta en los años 70 [205]. A pesar de su éxito [23], existen importantes desventajas, como por ejemplo que la polimerización del cemento es una reacción exotérmica que induce elevadas temperaturas que limita la selección del antibiótico [175]. Otra sería que los cementos para hueso cargados de antibiótico pueden llegar a retener el 90 % del antibiótico en su matriz y pueden provocar una liberación demasiado lenta [206] que se alarga durante meses y que podría provocar una resistencia bacteriana al antibiótico [207].

La mayoría de las alternativas para resolver las deficiencias de los cementos óseos acrílicos implican su sustitución por materiales bioerosionables liberadores de fármacos que actúan como andamios o como sistemas de fijación y no requieren de su extirpación quirúrgica [208]. Por lo tanto, algunos materiales actúan como andamios reabsorbibles para regeneración ósea, otros actúan como sistemas de fijación que se encuentran temporalmente o permanentemente en el hueso hasta su curación y ambos escenarios son propensos a la infección bacteriana. El diseño de andamios o prótesis que puedan liberar antibióticos es, por lo tanto, interesante en el amplio campo de la traumatología y de la cirugía ortopédica [208].

Existen muchos dispositivos médicos utilizados en traumatología con propiedades liberadoras de fármacos [209] como hemos mencionado anteriormente. Estos dispositivos se ayudan de materiales como la hidroxiapatita, los bio-vidrios, polímeros y titanio para almacenar el fármaco que posteriormente se liberará.

Se utilizan bloques de hidroxiapatita de calcio impregnada con gentamicina que se han implantado en pacientes sometidos a una artroplastia de resección, y no ha existido evidencia de infección recurrente en el 86% de ellos [206]. Se han desarrollado también andamios de hidroxiapatita con microesferas de PLGA, cargadas de dexametasona (DEX) como anti-inflamatorio para la regeneración ósea [210].

Por otra parte, las matrices de cerámicas porosas como fosfatos de calcio [211] y materiales de sílice mesoporosos con poros ordenados son conocidos como materiales capaces de absorber y liberar fármacos de forma controlada como se ha mencionado anteriormente [52,212].

Aunque la tuberculosis pulmonar es la forma más común de la infección producida por la *mycobacterium tuberculosis*, también existen infecciones extrapulmonares producidas por esta bacteria como pueden ser los ganglios linfáticos, los intestinos, los huesos, las articulaciones, meninges, o el tracto genitourinario. Actualmente la tuberculosis osteoarticular representa entre el 1-4,3% de los casos de tuberculosis y el 10-15% (10-38 millones de personas en el mundo) de los casos de tuberculosis extrapulmonar. La forma más común de contagio de la tuberculosis osteoarticular es que la bacteria alojada en los pulmones pasa por algún motivo al torrente sanguíneo y este lo distribuye por todo el cuerpo alojándose en huesos y articulaciones [213,214]. Para combatir este tipo de infecciones se han desarrollado andamios formados por una matriz porosa de beta-fosfato tricálcico (β -TCP) cargada con micropartículas porosas de sílice en la superficie interna macroporosa del andamio y posteriormente recubiertas con una capa de vidrio bioactivo. En dichas micropartículas han sido encapsulados previamente dos fármacos para el tratamiento de la tuberculosis osteoarticular como son la isoniazida y la rifampicina, manteniendo

los valores de liberación de ambos fármacos por encima de la concentración efectiva durante 42 días para matar la cepa *mycobacterium tuberculosis* [213]. Este andamio podrá ser utilizado como relleno de los huecos dejados en el hueso tras el desbridamiento realizado para erradicar la tuberculosis osteoarticular ofreciendo además una terapia prolongada *in-situ* post-operatoria.

Otra solución aportada a la regeneración ósea es la fabricación de monolitos de bio-vidrios de porosidad bien controlada y variable desde macroporosa a mesoporosa, que se pueden utilizar con una doble funcionalidad, primero como andamios prostéticos y segundo, utilizando su estructura mesoporosa como sistema de liberación de fármacos [215]. Los bio-vidrios mesoporosos cargados de dexametasona (DEX) mejoran en gran medida la osteogénesis y la formación de osteoblastos [216,217]. Otros autores, proponen la utilización de bio-vidrios con TiO_2 de estructura macro y mesoporosa para la liberación de ibuprofeno, dado que el TiO_2 favorece la formación de hidroxiapatita y la estructura mesoporosa la liberación del fármaco [218]. La síntesis de SBA-15 dentro de un andamio macroporoso de bio-vidrio combina la bioactividad de éste con la capacidad de carga y liberación de fármaco de la primera, utilizando como fármaco modelo de estudio el ibuprofeno [82]. Otros autores para sintetizar los andamios utilizan un composite de sílice mesoporosa e hidroxiapatita, como portador del fármaco. Dicho composite se encuentra embebido en una matriz polimérica de PLGA y de esta manera consiguen la liberación de sulfato de gentamicina [25].

También se proponen andamios de materiales compuestos para la regeneración ósea, que combinan las propiedades mecánicas de los materiales poliméricos bioerosionables con la capacidad de controlar la liberación obtenida con materiales mesoporosos inorgánicos [219,220]. Aunque los andamios de bio-vidrios presentan un excelente potencial para la regeneración ósea, sus pobres propiedades mecánicas (demasiado frágil) son un serio inconveniente [221]. Para mejorar las propiedades mecánicas, se han fabricado andamiajes de bio-vidrios y polímeros tales como la caprolactona, con mesoporos, macroporos y poros gigantes, que poseen una naturaleza plástica similar a la

de una esponja y que debido a esta característica puede usarse tanto para la regeneración de hueso como para la fabricación de cartílago artificial [222]. En este sentido, han sido preparados andamios altamente porosos usando polvo de Bio-vidrio 45S5[®] recubierto por una capa de policaprolactona (PCL) y por otra capa híbrida de quitosano que contiene vancomicina. La presencia de PCL consigue aumentar el esfuerzo a compresión, el módulo elástico y el trabajo de fractura del andamiaje, mientras que el quitosano aporta la capacidad de controlar la liberación de la vancomicina [223]. Incluso ha sido propuesta la utilización de bio-vidrio mesoporoso unido con un biomaterial como la seda para la preparación de andamios que liberan dexametasona. La incorporación de estas proteínas naturales mejoran la estructura porosa del bio-vidrio, su resistencia mecánica así como la fijación, y a partir de células estromales de médula ósea la proliferación y rápida diferenciación en células precursoras de la formación de hueso [28]. Sin la utilización de polímeros, también se han fabricado andamiajes de vidrio bio-activo mesoporoso con la característica de aumentar la resistencia a la compresión una vez sumergido en fluido biológico simulado (SBF). Como consecuencia de su estructura mesoporosa se facilita el transporte iónico hacia el interior de la pieza sólida donde cristaliza una nueva fase de apatita que refuerza las interacciones del límite de grano, dando como resultado un nanocompuesto biomimético dentro de todo el volumen del implante [224].

Por otra parte, los andamios poliméricos también han sido muy estudiados, por ejemplo los constituidos de nanofibras de PLGA con estructura macroporosa. La incorporación de doxiciclina (DOXY) dentro de nanoesferas de PLGA que a su vez se introducen en el andamiaje permiten la liberación local y temporalmente controlada del fármaco, inhibiendo así, el crecimiento microbiano de bacterias como el *S. aureus* y *E. coli* [225]. También se ha investigado el uso de andamios de poliuretano con un 10% en peso de D-isómeros de aminoácidos tales como la D- fenilalanina, D- metionina, D-triptófano, la D- prolina y la D-tirosina cuya liberación provoca la dispersión de *biofilms* bacterianos tanto en el andamio como en la zona próxima al implante. Este tipo de andamio ha sido probado con éxito para la dispersión del *S. aureus* [226].

Por último, en algunos materiales metálicos biocompatibles, mediante un proceso de auto-ensamblado por evaporación inducida, se han obtenido recubrimientos de implantes metálicos con TiO₂ mesoporoso para la liberación de un antibiótico como la cefazolina, consiguiendo una rápida unión al hueso y estabilidad biológica [18]. Otros autores [19] también recubren tornillos de titanio con una delgada capa de TiO₂ mesoporoso que resiste los esfuerzos a los que se le someten durante el implante en la tibia de un conejo y que podrían usarse como sistemas de liberación de fármacos.

1.5. Resumen y objetivos

El presente proyecto propone utilizar como recubrimiento, capas o cristales individuales inorgánicos de sílice (zeolitas, materiales mesoporosos), ya que los recubrimientos poliméricos, como se ha dicho anteriormente, pueden producir problemas bien conocidos, como son trombosis tardía, inflamación, y nueva restenosis en aplicaciones coronarias.

Dichos recubrimientos serían innovadores ya que supondrán un paso adelante al sustituir los recubrimientos orgánicos existentes (con su inconvenientes) por recubrimientos inorgánicos (silíceos) con una velocidad de desorción del fármaco adsorbido previamente controlada.

Se pretende aprovechar las ventajas de los materiales inorgánicos como “depósitos” de fármacos, que enlazados mediante distintas técnicas a los dispositivos médicos, aporten una liberación controlada y localizada del fármaco almacenado en su interior.

El objetivo general del proyecto es el estudio y desarrollo de distintos modelos de prótesis liberadores de fármaco:

1^a) Diseño de recubrimientos inorgánicos silíceos sobre sustratos de Níquel-Titanio para la liberación controlada de fármacos en dispositivos médicos insertables quirúrgica y no-quirúrgicamente incluyendo dispositivos coronarios, por ejemplo, stents. Los recubrimientos silíceos actuarán como

depósitos de fármacos y la estructura porosa de los mismos determinará que la difusión del fármaco al medio biológico correspondiente sea controlada.

2º) Diseño de un modelo de prótesis hueca y porosa de acero inoxidable 316L, en cuyo interior se encuentra almacenado volumétricamente un material mesoporoso previamente cargado de antibiótico que liberará de manera controlada y localizada en el foco de infección.

3º) Diseño de un modelo de prótesis hueca de acero inoxidable en la que se almacena un fármaco que difunde al exterior a través de una membrana de material zeolítico sintetizada en la superficie del modelo de prótesis.

El objetivo general se puede subdividir en varios objetivos específicos:

1º) Se pretende realizar un estudio exhaustivo de los tratamientos superficiales más adecuados sobre el Nitinol, de cara a las aplicaciones médicas, teniendo en cuenta los problemas que éstas presentan: interacción con tejidos vivos, corrosión, desprendimiento de partículas, etc. Además, se pretende optimizar la capa de pasivación formada por óxidos que se forman en el material para reducir la liberación de iones en el medio biológico.

2º) Recubrimiento del propio implante, mediante técnicas de síntesis hidrotermal y enlazado covalente, con una película silíceo dentro de la cual se ha encapsulado un fármaco, cuya liberación progresiva y controlada permita una acción directa sobre la zona circundante al implante.

El correcto funcionamiento del dispositivo propuesto exige como paso previo un control exhaustivo de las propiedades superficiales del soporte donde se va a depositar la capa exterior con los fármacos adsorbidos, así como una garantía de la adecuada adherencia de la citada capa al soporte, tanto en el proceso de implantación de la misma como durante su aplicación en las condiciones normales de uso.

Partiendo de la experiencia previa en el diseño y caracterización del comportamiento mecánico de dispositivos médicos insertables por parte del

grupo de Biomateriales, se pretende realizar un análisis exhaustivo de los diferentes tratamientos superficiales en la aleación Níquel-Titanio, lo que permitirá un profundo conocimiento de las propiedades finales según el acabado superficial, y permitirá en el futuro la elección más adecuada de cara a conseguir una superficie que sea más favorable para el proceso posterior de deposición de la capa silícea que contendrá los medicamentos deseados.

3º) Estudio de la cinética de liberación de un fármaco desde el interior de un dispositivo de acero inoxidable poroso donde está almacenado volumétricamente un material mesoporoso en cuya superficie y poros se encuentra adsorbido dicho fármaco. Esta fase conllevará el estudio y comparación de distintos materiales mesoporosos, MCM-41, MEM, SBA-15, además de conseguir una liberación controlada y reproducible.

4º) Estudio de la cinética de liberación de un fármaco desde el interior de un dispositivo de acero inoxidable a través de una membrana de material zeolítico. La cinética estará controlada por el tamaño de poro y la no existencia de defectos en la membrana sintetizada.

El presente proyecto de tesis, por lo tanto, pretende diseñar un dispositivo médico, teniendo como resultado una aplicación terapéutica localizada clara. Los materiales, por ser mesoporosos, pueden albergar moléculas de fármacos de elevado tamaño de hasta 15 nm. Por consiguiente, los dispositivos con estos materiales silíceos, almacenarán fármacos (frecuentemente macromoléculas) que se encontrarán adsorbidos en su interior, disponiendo de un gran volumen de almacenamiento para liberar de manera controlada el medicamento en una terapia determinada.

La zeolita o el material inorgánico nanoestructurado adsorberá en su interior fármacos específicos ("paclitaxel" y "linezolid) con actividad terapéutica para prevenir la restenosis en el caso de los stents coronarios y antibióticos en el caso de los dispositivos empleados en traumatología tipo tornillos, tallos endomedulares, etc.

1.6. Bibliografía

- [1] L.M. Lechuga, Nanomedicina: aplicación de la nanotecnología en la salud. 9ª edición del curso de Biotecnología Aplicada a la Salud Humana.
- [2] L. A. De Louise, *Nanomedicine* 8 (2013) 1047.
- [3] F. Palacio, Nanociencia y Nanotecnología en España. Un análisis de la situación presente y de las perspectivas de futuro. *Nanomateriales*. Ed. Fundación Phantoms.
- [4] N. Roveri, M. Lafisco, *Nanotechnology, Science and Applications* 3 (2010) 107.
- [5] C. Zhao, A. Tan, G. Pastorin, H. K. Ho, *Biotechnology Advances* 31 (2013) 654.
- [6] D.F. Williams, J. Black, P.J. Doherty, Second consensus conference on definitions in biomaterials, 1992.
- [7] M. Vallet-Regí, *Biomateriales para sustitución y reparación de tejidos*.
- [8] R. Narayan, *Biomedical Materials*. Ed. Springer. 2009.
- [9] C.L. Alviar, A. Tellez, M. Wang, P. Potts, D. Smith, M. Tsui, W. Budzynski, A.E. Raizner, N. Kleiman, E. Lev, J.F. Granada, G.L. Kaluza, *Journal of thrombosis and thrombolysis* 34 (2012) 91.
- [10] R. Hauert, K. Thorwarth, G. Thorwarth, *Surface & Coatings Technology* 233 (2013) 119.
- [11] R. Podila, T. Moore, F. Alexis, A. M. Raob, *RSC Advances* 3 (2013) 1660.
- [12] S. M.Kurtz, S. Kocagöz, C. Arnholt, R. Huet, M. Ueno, W.L. Walter, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials* 31(2014)107.
- [13] S.E. Haine, B.M. Cornez, J.M. Jacobs, H.P. Miljoen, T.R. Vandendriessche, M. J. Claeys, J. M. Bosmans, C. J. Vrints, *Canadian Journal of Cardiology* 29 (2013) 1090.
- [14] P. Vermeersch, Y. Appelman, D. Horstkotte, G. Richardt, J. Boland, J. Lalmand, P. Coussement, M. Castadot, L. Janssens, P. Agostonij, I.

- Buysschaert, M. J. Suttorp, *Cardiovascular Revascularization Medicine* 13 (2012) 316.
- [15] M. Chen, B. Zheng, W. Zheng, H-Y Peng, X-G. Wang, B. Zhang, Y. Huo, *Chinese Medical Journal* 126 (2013) 4731.
- [16] Z. Yu, H. Zhu, S. Lü, X. Yang, *J. Mater. Sci: Mater. Med.* 24 (2013) 2601.
- [17] D. M. Martin, F. J. Boyle, *Medical Engineering & Physics* 33 (2011) 148.
- [18] W. Xia, K. Grandfield, A. Hoess, A. Ballo, YL. Cai, H. Engqvist, *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 100B (2012) 82.
- [19] J. Karlsson, R. Jimbo, H. M. Fathali, H. O. Schwartz-Filho, M. Hayashi, M. Halvarsson, A. Wennerberg, M. Andersson, *Acta Biomaterialia* 8 (2012) 4438.
- [20] J.H. Sui, W. Cai, *Surface & Coatings Technology* 201 (2007) 5121.
- [21] S. Shabalovskaya, J. Anderegg, J.V. Humbeeck, *Acta Biomaterialia* 4 (2008) 447.
- [22] Q.M. Peng, K. Li, ZS Han, E.D. Wang, Z.G. Xu, R.P. Liu, Y.J. Tian, *Journal of biomedical materials research Part A* 101A (2013) 1898.
- [23] L.B. Engesaeter, S.A. Lie, B. Espehaug, O. Furnes, S.E. Vollset, L.I. Havelin, *Acta Orthop. Scand.* 74 (2003) 644.
- [24] D. Echeverri, *Rev. Colomb. Cardiol.* 17 (2010) 47.
- [25] X. Shi, Y. Wang, L. Ren, N. Zhao, Y. Gong, D-A. Wang, *Acta Biomaterialia* 5 (2009) 1697.
- [26] http://en.wikipedia.org/wiki/Composite_material
- [27] P. Robinson, C. Wilson, J. Mecholsky Jr, *Journal of the European Ceramic Society* 34 (2014) 1387.
- [28] C. Wu, Y. Zhang, Y. Zhu, T. Friis, Y. Xiao, *Biomaterials* 31 (2010) 3429.
- [29] W.J. Buehler, R. L. Wiley: *Nickel-base alloys*. U.S. Patent 3.17 Tarea 4.851 (1965).

- [30] G. Barrabés, influencia del laminado en las propiedades termomecánicas de la aleación de memoria de forma NiTi para aplicaciones en ferulajes. Proyecto Fin de Carrera (2005).
- [31] <http://www.actimat.es/web/memoriadeforma.asp>
- [32] W. D. Callister Jr, Introducción a la ciencia e ingeniería de los materiales. Ed. Reverté (2007).
- [33] J.D. Harrison, Proc. Of 1st European Conference on Shape Memory and Superelastic Technologies (1999) 1.
- [34] M. Bram, A. Ahmad-Khanlou, A. Heckmann, B. Fuchs, H. P. Buchkremer, D. Stöver, Materials Science and Engineering A 337 (2002) 254.
- [35] J. M. Jani, M. Leary, A. Subic, M. A. Gibson, Materials and Design 56 (2014) 1078.
- [36] M. Mertmann, G. Vergani, Eur. Phys. J. Special Topics 158 (2008) 221.
- [37] W. Huang, Materials & Design 23 (2002) 11.
- [38] F. T. Calkins, J. H. Mabe, Journal of Mechanical Design 132 (2010) 111012-1.
- [39] C. DellaCorte, "Nickel-Titanium alloys: corrosion proof alloys for space bearing components and mechanism applications," in Proceedings of the 40th Aerospace Mechanisms Symposium, NASA Kennedy Space Center, May 2010.
- [40] M. Salehi, M. Hamed, H. S. Nohouji, J. Arghavani, Smart Mater. Struct. 23 (2014) 025001 (10pp).
- [41] D. Stoeckel, C. Bonsignore, S. Duda, Min. Invas. Ther. and Allied Technol. 11 (2002) 137.
- [42] P. W. Serruys, M. J. B. Kutryk. Handbook of coronary stents. Ed. Martin Dunitz, Londres (2000).
- [43] A. Serra, F. Miranda, R. Venegas, Rev. Esp. Cardiol. Supl. 7 (2007) 8E.
- [44] J. Lin, R. Guidoin, L. Wang, Z. Zhang, R. Paynter, T. How, M. Nutley, D. Wei, Y. Douville, G. Samis, G. Dionne, N. Gilbert, Journal of long-term effects of medical implants 23 (2013) 45.

- [45] S. A. Shabalovskaya, *Bio-Med. Mater. Eng.* 12 (2002) 69.
- [46] J. Ryhänen , E. Niemi, W. Serlo, E. Niemelä, P Sandvik, H. Pernu, T Salo, *J. Biomed. Mater. Res.* 35 (1997) 451.
- [47] Seminar of Medical Applications for shape memory alloys. ImechE HQ. London (1999).
- [48] T. Duerig, A. Pelton, D. Stöckel, *Materials Science and Engineering A* 273-275 (1999) 149.
- [49] M. Geetha, A.K. Singh, R. Asokamani, A.K. Gogia, *Progress in Materials Science* 54 (2009) 397.
- [50] B. Pérez, *Biomateriales: aplicación a cirugía ortopédica y traumatología* (Proyecto Fin de Carrera).
- [51] S. Pourhashem, A.Afsharn, *Ceramics International* 40 (2014) 993.
- [52] M. Vallet-Regí, *Dalton Transactions* 44 (2006) 5211.
- [53] Ž. Mladenović, A. Johansson, B. Willman, K. Shahabi, E. Björn, M. Ransjö, *Acta Biomaterialia* 10 (2014) 406.
- [54] G. R. Beck, S-W. Ha, C. E. Camalier, M. Yamaguchi, Y. Li, J-K. Lee, M. N. Weitzmann, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 8 (2012) 793.
- [55] J. Ballarre, P. M. Desimone, M. Chorro, M. Baca, J. C. Orellano, S. M. Ceré, *Journal of Structural Biology* 184 (2013) 164.
- [56] Y. Xiao, L. Song, X. Liu, Y. Huang, T. Huang, Y. Wu, J. Chen, F. Wu, *Applied Surface Science* 257 (2011) 1898.
- [57] R. Ravichandran, S. Gandhi, D. Sundaramurthi, S. Sethuraman, U. M. Krishnan, *Journal of biomaterials science-polymer edition* 24 (2013) 1988.
- [58] J.A. Sowjanya, J. Singh, T. Mohita, S. Sarvanan, A. Moorthi, N. Srinivasan, N. Selvamurugan, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 109 (2013) 294.
- [59] A. Obata, H. Ozasa, T. Kasuga, J. R. Jones, *J Mater Sci: Mater. Med.* 24 (2013) 1649.

- [60] K.S.W. Sing, D.H.E., R.A.W. Haul, L. Moscou, R.A. Pierotti, J. Rouquerol, T. Siemieniowska, Pure App . Chem. 57 (1985) 603.
- [61] S.M. Auerbach, K.A. Carrado, P.K. Dutta, Handbook of zeolite science and technology. Marcel Dekker Inc., New York (2003).
- [62] G. von Willingh, H. S. Abbo, S. J.J. Titinchi, Catalysis Today 227 (2014) 96.
- [63] S.B. Wang, Y.L. Peng, Chem. Eng. J., 156 (2010) 11.
- [64] C.S. Cundy, P.A. Cox, Chem. Rev. 103 (2003) 663.
- [65] C.S. Cundy, P.A. Cox, Microporous and Mesoporous Materials 82 (2005) 1.
- [66] C.S. Cundy, P.A. Cox, Chem. Rev. 103 (2003) 663.
- [67] C.S. Cundy, P.A. Cox, Microporous and Mesoporous Materials 82 (2005) 1.
- [68] H. van Bekkum, E.M. Flanigen, J.C. Jansen, Studies in Surface Science and Catalysis 58 (1991) 13.
- [69] <http://www.iza-structure.org/databases/>
- [70] http://www.uv.es/lahuerta/indice_estructuras/indice_estructuras/zeolitas/zeolitasintro/index.htm
- [71] J. Weitkamp, Solid State Ionics 131 (2000) 175.
- [72] J. Coronas, J. Santamaría, Chemical Engineering Science 59 (2004) 4879.
- [73] M.P. Pina, R. Mallada, M. Arruebo, M. Urbiztondo, N. Navascués, O. de la Iglesia, J. Santamaría, Microporous and Mesoporous Materials 144 (2011) 19.
- [74] T. Linssen, K. Cassiers, P. Cool, E.F. Vansant, Adv. Colloid Interfac., 103 (2003) 121.
- [75] Z. A. ALothman, Materials 5 (2012) 2874.
- [76] M. Guidotti, C. Pirovano, N. Ravasio, B. Lázaro, J. M. Fraile, J. A. Mayoral, B. Coq, A. Galarneau, Green Chem. 11 (2009) 1421.
- [77] F. Sevimli, A. Yilmaz, Microporous and Mesoporous Materials 158 (2012) 281.
- [78] N. Rahmat, A.Z. Abdullah, A.R. Mohamed, Am. J. Appl. Sci. 7 (2010) 1579.

- [79] N. Vadia, S. Rajput, Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research 4 (2011) 44.
- [80] M. Vallet-Regí, F. Balas, D. Arcos, Angewandte Chemie International Edition 46 (2007) 7548.
- [81] D. Lozano, M. Manzano, J. C. Doadrio, A. J. Salinas, M. Vallet-Regí, E. Gómez-Barrena, P. Esbrit, Acta Biomaterialia 6 (2010) 797.
- [82] V. Cauda, S. Fiorilli, B. Onida, E. Vernè, C. V. Brovarone, D. Viterbo, G. Croce, M. Milanesio, E. Garrone, J. Mater. Sci: Mater. Med. 19 (2008) 3303.
- [83] World Health Organization. World Health Statistics, 2012.
- [84] S. Sans, Programa de Formación de Formadores/as en Perspectiva de Género en Salud, Módulo 6: Enfermedades cardiovasculares.
- [85] S. Lamichhane, S. Lancaster, E. Thirupathi, G. Mani, Langmuir 29 (2013) 14254.
- [86] http://es.wikipedia.org/wiki/Cardiopatía_isquémica
- [87] <http://es.wikipedia.org/wiki/Ateroesclerosis>
- [88] <http://es.wikipedia.org/wiki/Arterioesclerosis>
- [89] QI. PengKai, Y. Ying, M. F. Manfred, H. Nan, Chinese Science Bulletin (2013) doi: 10.1007/s11434-013-6070-1.
- [90] <http://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/002303.htm>
- [91] <http://www.cardiospecialists.org/stenting.htm>
- [92] <http://www.dicardiology.com/article/trial-data-shows-superior-efficacy-promus-element-compared-xience-v>
- [93] G. Mani, M. D. Feldman, D. Patel, C. M. Agrawal, Biomaterials 28 (2007) 1689.
- [94] D. Cassak, In Vivo: The Business & Medicine Report 26 (2008) 1.
- [95] <http://www.aragoninvestiga.org/Dispositivos-medicos-en-el-interior-del-cuerpo-humano-para-liberar-controladamente-un-farmaco/>
- [96] E.C.L. Grove, S.D. Kristensen, European Society of Cardiology 5 N°32 (2007).

- [97] J. L. Delcán-Domínguez, S. Jiménez-Valero, *Rev. Esp. Cardiol. Supl.* 7 (2007) 1E.
- [98] S. Garg, P.W. Serruys, *J. Am. Coll. Cardiol.* 56 (2010) S1.
- [99] S. Lancaster, S. Kakade, G. Mani, *Langmuir* 28 (2012) 11511.
- [100] T. Palmerini, G. Biondi-Zoccai, D. Della Riva, C. Stettler, D. Sangiorgi, F. D'Ascenzo, T. Kimura, C. Briguori, M. Sabatè, H-S. Kim, A. De Waha, E. Kedhi, P. C. Smits, C. Kaiser, G. Sardella, A. Marullo, A. J. Kirtane, M. B. Leon, G. W. Stone, *Lancet* 379 (2012) 1393.
- [101] ATL. Ong, EP. McFadden, E. Regar, PPT de Jaegere, RT. van Domburg, PW. Serruys, *J. Am. Coll. Cardiol.* 45 (2005) 2088.
- [102] Y. He, J. Wang, W. Yan, N. Huang, *RSC Advances* , 4 (2014) 212.
- [103] A. Mirmohseni, J. Hosseini, M. Shojaei, S. Davaran, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 112 (2013) 330.
- [104] T. Palmerini, G. Biondi-Zoccai, D. Della Riva, A. Mariani, P. Genereux, A. Branzi, G. W. Stone, *Journal of the American College of Cardiology* 62 (2013) 1915.
- [105] W. Khan, S. Farah, A. J. Domb, *Journal of Controlled Release* 161 (2012) 703.
- [106] X. Zhu, D. W. Pack, R. D. Braatz, *Computer Methods in Biomechanics and Biomedical Engineering* 17 (2014) 187.
- [107] S. H. Yuk, K. S. Oh, J. Park, S-J. Kim, J. H. Kim, I. K. Kwon, *Sci. Technol. Adv. Mater.* 13 (2012) 025005.
- [108] A. R. Amini, C. T. Laurencin, S. P. Nukavarapu, *Crit Rev Biomed Eng.* 40 (2012) 363.
- [109] N. J. Hickok, I. M. Shapiro, *Advanced Drug Delivery Reviews* 64 (2012) 1165.
- [110] <http://www.abbottvascular.com/int/absorb.html>
- [111] J-I. Kuratsu, K. Sato, Y. Saitoh, H. Takeshima, M. Morioka, Y. Ushio, *Journal of Neuro-Oncology* 23 (1995) 201.

- [112] J. Daemen, P. W. Serruys, *Circulation: Journal of American American Heart Association* 116 (2007) 316.
- [113] A. Kastrati , A. Dibra, S. Eberle, J. Mehilli, JS. de Lezo, JJ Goy, K. Ulm, A. Schomig, *JAMA* 7 (2005) 819.
- [114] L-C. Su, Y-H. Chen, M-C. Chen, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 5 (2013) 12944.
- [115] K.V. Wolf, Z. Zong, J. Meng, A. Orana, N. Rahbar, K.M. Balss, G. Papandreou, C.A. Maryanoff, W.O. Soboyejo, *J. Biomed. Mater. Res. Part. A*, 87 (2008) 272.
- [116] S.V. Ranade, K.M. Miller, R.E. Richard, A.K. Chan, M.J. Allen, M.N. Helmus, *J. Biomed. Mater. Res. Part. A*, 71 (2004) 625.
- [117] S. Petersen, J. Hussner, T. Reske, N. Grabow, V. Senz, R. Begunk, D. Arbeiter, H. K. Kroemer, K.-P. Schmitz, H. E. M. zu Schwabedissen, K. Sternberg, *J. Mater. Sci: Mater. Med.* 24 (2013) 2589.
- [118] A. V. Finn, F. D. Kolodgie, J. Harnek, L.J. Guerrero, E. Acampado, K. Tefera, K. Skorija, D. K. Weber, H. K. Gold, ; R. Virmani, *Vascular medicine* 112 (2005) 270.
- [119] J. R. Nebeker, R. Virmani, C. L. Bennett, J. M. Hoffman, M. H. Samore, J. Álvarez, C. J. Davidson, J. M. McKoy, D. W. Raisch, B. K. Whisenant, P. R. Yarnold, S. M. Belknap, D. P. West, J. E. Gage, R. E. Morse, G. Gligoric, L. Davidson, M. D. Feldman. *J. Am. Coll. Cardiol.* 47 (2006) 175.
- [120] J.R. Nebeker, R. Virmani, C.L. Bennett, J.M. Hoffman, M.H. Samore, J. Alvarez, C.J. Davidson, J.M. McKoy, D.W. Raisch, B.K. Whisenant, P.R. Yarnold, S.M. Belknap, D.P. West, J.E. Gage, R.E. Morse, G. Gligoric, L. Davidson, M.D.J. Feldman, *J. Am. Coll. Cardiol.* 47 (2006) 175.
- [121] J. M. Lee, S-D. Park, S. Y. Lim, J-H. Doh, J. M. Cho, K-S. Kim, J-W. Bae, W-Y. Chung, T-J. Youn, *Trials* 14 (2013) 398.
- [122] <http://www.biotronik.de>
- [123] <http://www.fda.gov/MedicalDevices/ProductsandMedicalProcedures/DeviceApprovalsandClearances/Recently-ApprovedDevices/ucm345065.htm>

- [124] R. Shetty, G. Vivek, A. Thakkar, S.S. Mishra, V. Joseph, M.G. Devraj, A. Tumkur, U. Pai, *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 7 (2013) 1959.
- [125] Y. A. Shuvalova, R. O. Shirokov, V. I. Kaminnaya, A. N. Samko, A. I. Kaminni, *Cardiovascular Revascularization Medicine* 14 (2013) 284.
- [126] <http://www.eucatech.de>
- [127] <http://www.bostonscientific.com>
- [128] T. Muramatsu, Y. Onuma, Y-J. Zhang, C. V. Bourantas, A. Kharlamov, R. Diletti, V. Farooq, B. D. Gogas, Scot Garg, H. M. García-García, Y. Ozakid, P. W. Serruys, *Rev. Esp. Cardiol.*, 66 (2013) 483.
- [129] A. Serra, F. Miranda, B. Vaquerizo, VII Curso internacional Teórico-práctico de terapia endovascular & miocárdica (2009) Madrid.
- [130] B. Oh, C. H. Lee, *Molecular Pharmaceutics* 10 (2013) 4432.[x.13] A.V. Kochetkov, V.L. Belevich, D.V. Ovchinnikov, A.O. Brednev, *Voenno-meditsinskii zhurnal* 334 (2013) 24.
- [131] D. Silvestri, C. Cristallini, M. Gagliardi, N. Barbani, M. D'acunto, G. Ciardelli, P. Giusti, *Journal of biomaterials applications* 24 (2009) 353.
- [132] Y. Liu, W. Wang, G. Acharya, Y-B. Shim, E. S. Choe, C. H. Lee, J. *Nanopart. Res*, 15 (2013)1962.
- [133] Y. Huang, S.S. Venkatraman, F.Y.C. Boey, E.M. Lahti, P.R. Umashankar, M. Mohanty, S. Arumugam, L. Khanolkar, S. Vaishnav, *Biomaterials* 31 (2010) 4382.
- [134] <http://www.abbottvascular.com>
- [135] M. Haude, R. Erbel, P. Erne, S. Verheye, H. Degen, D. Böse, P. Vermeersch, I. Wijnbergen, N. Weissman, F. Prati, R. Waksman, J. Koolen, *Lancet* 381 (2013) 836.
- [136] Y. Ye, H. Xie, Y. Zeng, X. Zhao, Z. Tian, S. Zhang, *Plos One* 8 (2013) e78667.

- [137] E. P. Navarese, K. Tandjung, B. Claessen, F. Andreotti, M. Kowalewski, D. E. Kandzari, D. J. Kereiakes, R. Waksman, L. Mauri, I. T. Meredith, A. V. Finn, H-S. Kim, J. Kubica, H. Suryapranata, T. M. Aprami, G. Di Pasquale, C. von Birgelen, E. Kedhi, *BMJ* 347 (2013) f6530.
- [138] J. Ormiston, M. Webster, J. Stewart, M. Vrolix, R. Whitbourn, D. Donohoe, C. Knappe, A. Lansky, G. F. Attizzani, P. Fitzgerald, D. E. Kandzari, W. Wijns, *ACC : Cardiovascular interventions* 6 (2013) 1026.
- [139] C-S. Yang, H-C. Wu, J-S. Sun, H-M. Hsiao, T-W. Wang, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 5 (2013) 10985.
- [140] C. M. Yakacki, R. Shandas, C. Lanning, B. Rech, A. Eckstein, K. Gall, *Biomaterials* 28 (2007) 2255.
- [141] N. Patel, A. P. Banning, *Heart* 99 (2013) 1236.
- [142] T. Sharma, Y. Hu, M. Stoller, M. Feldman, R. S. Ruoff, M. Ferrari, X. Zhang, *Lab Chip* 11 (2011) 2460.
- [143] <http://www.translumina.de>
- [144] <http://www.smtpl.com>
- [145] <http://www.microport.com>
- [146] <http://www.investor.jnj.com>
- [147] L. I. Lasave, J. de Ribamar, A. A. Abizaid, F. Feres, L. F. Tanajura, R. Staico, A. A. Abizaid, P. Beraldo, A.M.R. Sousa, J.E.M.R. Sousa, *The Journal of Invasive Cardiology* 19 (2007).
- [148] <http://www.medtronicstents.com/>
- [149] J. L. Gutiérrez-Chico, R. Jan van Geuns, E. Regar, W. J. van der Giessen, H. Kelbæk, K. Saunamäki, J. Escaned-Barbosa, N. Gonzalo, C. di Mario, F. Borgia, E. Nüesch, H. M. García-García, S. Silber, S. Windecker, P. W. Serruys, *European Heart Journal* (2011) (10 pag).
- [150] J.N. Wilcox, Overview of the Endeavor Resolute Preclinical and Clinical Programs, *Science & Technology, Medtronic CardioVascular* (2008) (ppt).

- [151] A. B. Mehta, P. Chandra, J. Dalal, P. Shetty, D. Desai, K. Chocklingam, J. Prajapati, P. Kumar, V. Magarkar, A. Vasawada, B.K. Goyal, V. Kumar, V. S. Rao, R. Babu, P. Parikh, U. Kaul, A. Patil, T. Mhetre, H. Rangnekar, *Indian heart journal* 65 (2013) 593.
- [152] <http://www.biosensors.com>
- [153] <http://www.sorin.com>
- [154] <http://www.amg-erle.de>
- [155] <http://www.bbraun.es>
- [156] <http://www.medgadget.com>
- [157] J. Ge, *Asia-Pacific Cardiology* 1 (2007) 42.
- [158] M. Khan, F.N. Mhulláinn, M. Nolan, *EuroIntervention* 4 (2008) 405.
- [159] <http://www.clearstream.ie>
- [160] <http://www.biotronik.com/>
- [161] J.B. Dahm, T. Willems, H.G. Wolpers, H. Nordbeck, J. Becker, J. Ruppert, *Eurointervention* 4 (2009) 502.
- [162] C.C. Mohan, K.P. Chennazhi, D. Menon, *Acta Biomaterialia* 9 (2013) 9568.
- [163] S-J. Song, K. W. Jung, Y. J. Park, J. Park, M. D. Cho, M. H. Jeong, Y. S. Kim, D. L. Cho, *J. Mater. Chem.*, 21 (2011) 8169.
- [164] <http://www.gobizkorea.com>
- [165] F. Keady, B. P. Murphy, *J. Mater. Sci: Mater. Med.* 24 (2013) 97.
- [166] W. J. van der Giessen, O. Sorop, P. W. Serruys, I. Peters-Krabbendam, H. M. M. van Beusekom, *J A C C : Cardiovascular interventions* 2 (2009) 284.
- [167] A. M. Slaney, V. A. Wright, P. J. Meloncelli, K. D. Harris, L. J. West, T. L. Lowary, J. M. Buriak, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 3 (2011) 1601.
- [168] D. Tarn, C.E. Ashley, M. Xue, E.C. Carnes, J.I. Zink, C. Brinker, *J. Acc. Chem. Res.* 46 (2013) 792.

- [169] M. M. Wan, J. Y. Yang, Y. Qiu, Y. Zhou, C. X. Guan, Q. Hou, W. G. Lin, J. H. Zhu, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 4 (2012) 4113.
- [170] Y. Zhou, K. Li, JY. Yang, CX. Guan, Y. Wang, CJ. Liu, JH. Zhu, *Small* 8 (2012) 1373.
- [171] N. Ehlert, P. P. Mueller, M. Stieve, T. Lenarzd, P. Behrens, *Chem. Soc. Rev.* 42 (2013) 3847.
- [172] Y. Wang, W. Zhang, J. Zhang, W. Sun, R. Zhang, H. Gu, *ACS Appl. Mater. Interfaces* 5 (2013) 10337.
- [173] P. Wang, H. Li, Y. Zhang, H. Liu, Y. Guo, Z. Liu, S. Zhao, J. Yin, Y. Guo, *Applied Surface Science* 290 (2014) 308.
- [174] H. Wieneke, O. Dirsch, T. Sawitowski, Y.L. Gu, H. Brauer, U. Dahmen, A. Fischer, S. Wnendt, R. Erbel, *Catheterization and cardiovascular interventions* 60 (2003) 399.
- [175] D. Molina-Manso, M. Manzano, J. C. Doadrio, G. Del Prado, A. Ortiz-Pérez, M. Vallet-Regí, E. Gómez-Barrena, J. Esteban, *International Journal of Antimicrobial Agents* 40 (2012) 252.
- [176] V. C. Kalia, *Indian J. Microbiol.*, 54 (2014) 1.
- [177] P. Bejon, E. Robinson, *Medicine* 4 (2013) 719.
- [178] L. Bernard, P. Hoffmeyer, M. Assal, P. Vaudaux, J. Schrenzel, D. Lew, J. *Antimicrob. Chemother.* 53 (2004) 127.
- [179] http://es.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus
- [180] C. A. Castañón-Sánchez, *Evid. Med. Invest. Salud* 5 (2012) 79.
- [181] H. Chambers, *Emerg. Infect. Dis.*, 7 (2001) 178.
- [182] H. Neu, *Science* 257 (1992) 1064.
- [183] <http://es.wikipedia.org/wiki/Antibiótico>
- [184] G.A. Pankey, L.D. Sabath, *Clinical Infectious Diseases* 38 (2004) 864.
- [185] G.L. French, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 58 (2006) 1107.

- [186] European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) 6 (2000) 509.
- [187] J. O. Errecalde, Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación (2004).
- [188] J.A. Martínez, F. Sánchez, Mecanismo de acción de los antibióticos (2007).
- [189] C. Sanchez de Rivas, Química Viva 2 (2006) 63.
- [190] T.D. Brock, M.T. Madigan, J.M. Martinko, J. Parker. Biology of microorganisms 6th edition, Prentic-Hall Inc. USA, 1999, x-909.
- [191] JE. Ross, RE. Mendes, RK. Flamm, RN. Jones, Linezolid Experience and Accurate Determination of Resistance (LEADER) Program for 2011: USA Surveillance Report.
- [192] A. J. García-Prats, P. C. Rose, A. C. Hesselring, H. S. Schaaf, Tuberculosis 94 (2014) 93.
- [193] R. Qadir, J. L. Ochsner, G. F. Chimento, M. S. Meyer, B. Waddell, J. M. Zavatsky, The Journal of Arthroplasty (2014) (In press).
- [194] D.P. Lew, F.A. Waldvogel, Lancet 364 (2004) 369.
- [195] A. Jover, F. Barcenilla, J. Torres, L. Prats, S. Garrido, J. M. Porcel, Med. Clin. (Barc) 128 (2007) 493.
- [196] S. Leone, S. Borrè, A. d'Arminio, G. Mordente, N. Petrosillo, A. Signore, M. Venditti, P. Viale, GISIG (Gruppo italiano di Studio sulle Infezioni Gravi), Consensus document on controversial issues for diagnosis and treatment of prosthetic joint infections.
- [197] M. R. DiCaprio, G. E. Friedlaender, The Journal of the American Academy of Orthopaedic Surgeons 11 (2003) 25.
- [198] McKee MD. Fractures of The Shaft of The Humerus. Rockwood & Green's Fractures in Adults, 6th Edition. Ed. Lippincott (2006).
- [199] C. García, D. Ortega, Revista Chilena de Radiología, 11 (2005) 58.
- [200] C. Bibbo, J. Brueggeman, J. Foot Ankle Surg. 49 (2010) 87.

- [201] W.T.M. Mason, S.N. Khan, C.L. James, T.J.S. Chesser, A.J. Ward, *Injury* 36 (2005) 599.
- [202] Z. Kong, M. Yu, K. Cheng, W. Weng, H. Wang, J. Lin, P. Du, G. Han, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 111 (2013) 536.
- [203] K. Vasilev, V. Sah, K. Anselme, C. Ndi, M. Mateescu, B. Dollmann, P. Martinek, H. Ys, L. Ploux, H. J. Griesser, *Nano Letters* 10 (2010) 202.
- [204] F. Martin, R. Walczak, A. Boiarski, M. Cohen, T. West, C. Cosentino, M. Ferrari, *J. Control. Release* 102 (2005) 123.
- [205] H.W. Buchholz, H. Engelbrecht, *Chirurg.* 41 (1970) 511.
- [206] D. Arcos, M. Vallet-Regí, *Acta Materialia* 61 (2013) 890.
- [207] F. Laurent, A. Bignon, J. Goldnadel, J. Chevalier, G. Fantozzi, E. Viguiet, T. Roger, G. Boivin, D. Hartmann, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 19 (2008) 947.
- [208] J. Andersson, J. Rosenholm, M. Lindén, *Topics in Multifunctional Biomaterials and Devices*, Capítulo 6. Ed. N Ashammakhi © 2008.
- [209] M. Arruebo, N. Vilaboa, J. Santamaria, *Expert Opin. Drug Deliv.* 7 (2010) 1.
- [210] J.M. Kim, T.S. Han, M.H. Kim, D.S. Oh, S.S. Kang, G. Kim, T.Y. Kwon, K.H. Kim, K.B. Lee, J.S. Son, S.H. Choi, *Tissue Eng. Regen. Med.* 9 (2012) 175.
- [211] D. Yu, J. Wong, Y. Matsuda, J.L. Fox, W.I. Higuchi, M. Otsuka, *J. Pharm. Sci.* 81 (1992) 529.
- [212] I. I. Slowing, J.L. Vivero-Escoto, C.W. Wu, V. S.Y. Lin, *Advanced Drug Delivery Reviews* 60 (2008) 1278.
- [213] M. Zhu, H. Wang, J. Liu, H. He, X. Hua, Q. He, L. Zhang, X. Ye, J. Shi, *Biomaterials* 32 (2011) 1986.
- [214] N. Arathi, A. Faiyaz; H. Najmul, *Journal of Clinical and Diagnostic Research* 7 (2013) 2189.
- [215] Y. Minaberry, M. Jobbágy, *Chem. Mater.* 23 (2011) 2327.

- [216] C. Wu, J. Chang, *Interface Focus* 2 (2012) 292.
- [217] C. Wu, R. Miron, A. Sculean, S. Kaskel, T. Doert, R. Schulze, Y. Zhang, *Biomaterials*, 32 (2011) 7068.
- [218] P. Jiang, H. Lin, R. Xing, J. Jiang, F. Qu, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 61 (2012) 421.
- [219] M.C. Costache, A.D. Vaughan, H. Qu, P. Ducheyne, D.I. Devore, *Acta Biomaterialia* 9 (2013) 6544.
- [220] N.G. McCrum, C.P. Buckley, C.B. Bucknall, *Principles of polymer engineering*. 2nd ed. Oxford: Oxford University Press; 1999.
- [221] M. Manzano, M. Vallet-Regí, *Progress in Solid State Chemistry* 40 (2012) 17.
- [222] H. Yun, S. Kim, E. Park, *Materials Science and Engineering C* 31 (2011) 198.
- [223] Q. Yao, P. Noeaid, J. A. Roether, Y. Dong, Q. Zhang, A. R. Boccaccini, *Ceramics International* 39 (2013) 7517.
- [224] D. Arcos, M. Vila, A. López-Noriega, F. Rossignol, E. Champion, F.J. Oliveira, M. Vallet-Regí, *Acta Biomaterialia* 7 (2011) 2952.
- [225] K. Feng, H. Sun, M.A. Bradley, E.J. Dupler, W.V Giannobile, P.X. Ma, *J. Control Release* 146 (2010) 363.
- [226] C. J. Sanchez Jr., E. M. Prieto, C. A. Krueger, K. J. Zienkiewicz, D. R. Romano, C. L. Ward, K. S. Akers, S. A. Guelcher, J. C. Wenke, *Biomaterials* 34 (2013) 7533.

2. SISTEMA EXPERIMENTAL Y METODOLOGÍA

2.1. Estudio de aspectos de la biocompatibilidad del sustrato y del recubrimiento

Lo que se pretende encontrar en este trabajo es una aplicación terapéutica adecuada para un material de partida (el Nitinol) que se ha demostrado biocompatible [1] y el que se recubrirá con una capa de material silíceo que liberará un fármaco y evitará potencialmente inflamaciones u otras reacciones adversas procedentes de rechazo de la prótesis y aumentará el éxito del implante.

En este contexto se han realizado los siguientes trabajos:

- 1) Para mejorar la biocompatibilidad y resistencia a la corrosión, se llevaron a cabo distintos tratamientos sobre la superficie del sustrato de Nitinol tales como oxidación química, hidrotérmica, pulido mecánico, calcinación, etc., con el objetivo de aumentar la capa de TiO_2 . Ya que los datos que aportan los laboratorios, tanto de ensayos *in vivo* como *in vitro*, indican las excelentes propiedades tanto de biocompatibilidad del nitinol atribuidas a la capa de pasivación de TiO_2 que protege al núcleo del material de la corrosión y de la lixiviación del níquel [2,3]. Aunque el Níquel está presente en el tejido humano en cantidades que rondan las 0,1 ppm y es esencial en la nutrición para las funciones biológicas del cuerpo humano, si un implante libera grandes cantidades de níquel, éste puede provocar reacciones adversas para la salud. Por ejemplo, el níquel puede provocar alergias, reacciones tóxicas y cancerígenas en contacto con la piel o con un implante que contenga este material si las dosis son muy altas [3-5].
- 2) Elegir como recubrimiento materiales que son biocompatibles, tales como son las micropartículas mesoporosas esféricas de material silíceo MCM-48 y la zeolita libre de aluminio (silicalita-1) para ser

utilizados en tratamientos locales [6,7]. Se pretende aprovechar su alta superficie específica y su elevado volumen de poros para el almacenamiento de fármacos y su posterior uso en sistemas para su liberación posterior controlada y vectorizada [6].

- 3) Modificar la rugosidad de la superficie para mejorar los enlaces covalentes entre el recubrimiento y el sustrato para favorecer su adhesión y estudiar el comportamiento mecánico de la interfase.

Para conseguir este fin se han realizado un conjunto de síntesis y caracterización de los materiales y dispositivos utilizados para la liberación del fármaco elegido, así como ensayos para obtener la cinética de liberación, que se describen a continuación.

2.1.1. Materiales utilizados

2.1.1.1. Sustratos

Como se ha dicho anteriormente las aleaciones cuasiequiatómicas de níquel-titanio, NiTi, combinan las propiedades físicas propias asociadas a las aleaciones metálicas convencionales, con otras como la superelasticidad, el efecto de memoria de forma de un camino y de dos caminos y su demostrada biocompatibilidad. Estas propiedades excelentes y únicas permiten su adecuado empleo en múltiples campos, en particular en aplicaciones médicas.

Como sustratos se utilizaron planchas de Nitinol (50,8 at.% Ni, 49,2 at.% Ti) de 1 mm de espesor, libres de óxidos suministradas por la empresa Memory Metalle, GmbH, Alemania. El contenido en Ni hace que el material se comporte como superelástico ya que a temperatura ambiente se encuentra en fase austenita ($A_f \sim 0$ °C) y al aplicar una tensión adecuada σ_p (la de plato en la curva tensión-deformación) el material se convierte a su fase cristalográfica llamada martensita. Esta tensión aumenta con la temperatura siempre por encima de A_f [8]. En el momento en que se elimina la carga como la martensita inducida por tensión no es estable termodinámicamente, el material vuelve de nuevo al estado inicial, es decir, la austenita. Este efecto se denomina

hiperelasticidad o superelasticidad y es viable dentro del rango de temperatura $A_f < T < M_d$, siendo M_d la mayor temperatura a la que ya no se puede formar martensita inducida por tensión, figura 2.1. Lo que ocurre por encima de M_d es que la tensión crítica para inducir martensita es mayor que la que se necesita para mover dislocaciones, por lo que al aplicar la tensión, en lugar de pasar de austenita a martensita, lo que ocurre es que la austenita se deforma plásticamente.

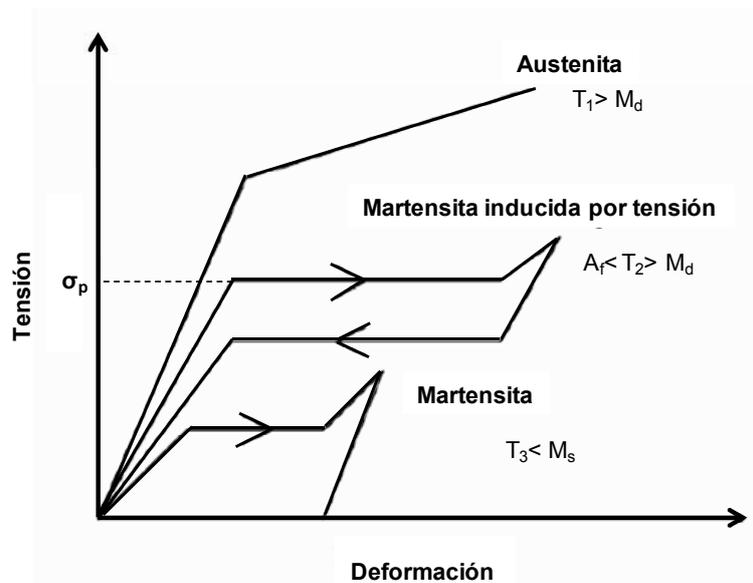


Figura 2.1.- Esquemmatización de las curvas tensión-deformación en función de la fase y temperatura en materiales con memoria de forma [9,10].

Las planchas fueron cortadas por electroerosión en:

- 1) Pequeñas láminas rectangulares de $15 \times 3 \times 1 \text{ mm}^3$ para los ensayos de flexión por tres puntos.
- 2) Cuadrados de $20 \times 20 \text{ mm}^2$
- 3) También se han usado alambres pulidos de 1,2 mm de diámetro de la misma composición y fabricante.

2.1.1.2. Productos químicos

Tetraetilortosilicato (98 %), bromuro de cetiltrimetilamonio (98 %), hidróxido de tetrapropilamonio (1M), amoniaco (25 %), tolueno anhidro (99,8 %), 3-cloropropiltrimetoxisilano (CPTMS, 99 %), y etanol que fueron suministrados por Sigma–Aldrich y agua Milli-Q ultra-pura.

2.1.1.3. Materiales silíceos utilizados como recubrimiento

Microesferas mesoporosas de MCM-48, que no son tóxicas a las dosis utilizadas y biocompatibles [6,7], presentan alta estabilidad química y mecánicas. Su carácter hidrofílico y su estructura porosa puede en principio ser utilizada para controlar la difusión de un fármaco adsorbido en su interior [11,12].

Las microesferas mesoporosas de MCM-48 fueron sintetizadas previamente de acuerdo con el proceso descrito por Liu y cols. [13].

Estas micropartículas consisten en un núcleo de octaedro truncado con la estructura cúbica de MCM-48 y poros cilíndricos crecidos en la superficie, con un tamaño de $0,84 \pm 0,1 \mu\text{m}$, con una isoterma de adsorción/desorción del tipo IV, con un tamaño de poro de 2,8 nm y un volumen total de poro de $0,76 \text{ cm}^3/\text{g}$. El volumen de microporo fue aproximadamente 0 (calculado por el método t-plot), es decir, el material no presenta microporosidad y el área de superficie BET calculada fue de $926,9 \text{ m}^2/\text{g}$.

También se ha elegido una zeolita libre de aluminio (silicalita-1), porque el aluminio podría ser tóxico, porque, por ejemplo distorsiona la mineralización de los osteoblastos [14,15].

Además esta zeolita es hidrofóbica (si se compara con muchas otras zeolitas ricas en aluminio), con un tamaño de partícula de $0,5\text{-}1,7 \mu\text{m}$, con una isoterma de adsorción/desorción del tipo I característica de los materiales microporosos y el área de superficie BET fue de $440,5 \text{ m}^2/\text{g}$.

Para la síntesis de los cristales de silicalita se han empleado los siguientes productos:

Tabla 2.1.- Gel de síntesis de la silicalita-1

COMPONENTE	CANTIDAD (moles)
TEOS (Aldrich)	0,057
Etanol (Panreac)	1,976
Agua Milli-Q	0,568
TPAOH	0,055

Dicha síntesis se realiza en autoclaves similares a los que se muestra en la figura 2.2 y mediante crecimiento hidrotérmal a 130 °C durante 12 h y una composición molar de 1SiO₂:1TPAOH:500H₂O:20EtOH. Después de la síntesis el templante (TPAOH) se elimina por calcinación a 480 °C durante 8 h con una rampa de calentamiento/enfriamiento de 0,5 °C/min.

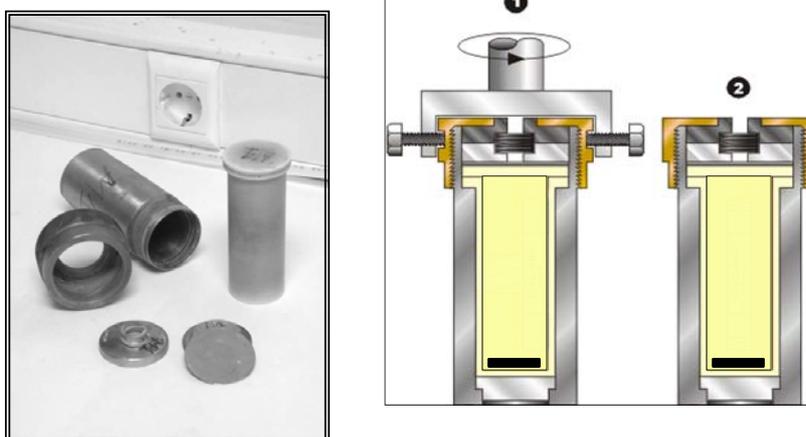


Figura 2.2.- Autoclaves para la síntesis directa.

2.1.2. Tratamientos superficiales sobre Nitinol

El NiTi tiende a formar una capa de óxido de titanio de forma espontánea debido a que la entalpía de formación de dicho óxido es negativa y unas dos veces mayor en valor absoluto que la entalpía de formación de los óxidos de níquel. Dicha capa protectora va siendo sometida a corrosión y aunque su velocidad de corrosión es muy lenta, puede comprometer la funcionalidad de la pieza cuando ésta sea de pequeño espesor [16]. El principal problema de este deterioro de la capa superficial radica en el níquel, el cual puede generar problemas de reacción alérgica o tóxica como se ha mencionado anteriormente [3-5,16]. El níquel es un átomo intersticial en la estructura del óxido de titanio. Debido su pequeño tamaño en comparación al titanio y al oxígeno, el níquel puede difundir rápidamente a través de los espacios intersticiales [17]. Además, los óxidos de titanio en la superficie del nitinol son comúnmente no estequiométricos debido a la escasez de oxígeno. Estos sitios sin átomos de oxígeno presentan vacantes estructurales que pueden ser utilizadas por los átomos de níquel para difundir a través de los óxidos de titanio incluso a temperaturas bajas [17].

Los pre-tratamientos se llevaron a cabo con el objetivo de obtener una capa de TiO₂ homogénea y de elevado espesor en la superficie externa de las láminas cortadas. De esta manera se aumenta la biocompatibilidad [18,19], la resistencia a la corrosión [4,20,21] y se aleja o incluso se elimina el níquel de la superficie. En este trabajo, también se analizó la influencia de los diferentes tratamientos en la deposición de la capa de material silíceo.

Antes de cualquier pre-tratamiento todas las láminas se limpiaron en un baño de ultrasonidos siguiendo este proceso: dos veces con acetona durante 15 minutos, luego una con tricloroetileno durante 15 minutos y finalmente otra con agua Milli-Q el mismo tiempo con el objetivo de eliminar cualquier tipo de aceite lubricante del proceso de laminación y cualquier impureza que pudiera existir.

Los pre-tratamientos estudiados se detallan a continuación.

2.1.2.1. Material recibido (R)

Es el sustrato al que únicamente se le realizó el lavado descrito anteriormente.

2.1.2.2. Oxidación química (OQ)

Tras el lavado previo, se aplicó este tratamiento que consiste en introducir las láminas de Nitinol en HNO₃ (20 %) durante 20 minutos a 80 °C. A continuación se lava con abundante agua Milli-Q, posteriormente se utiliza un baño de ultrasonidos con agua Milli-Q durante 15 minutos para eliminar el HNO₃ que pueda existir y finalmente se deja secar siguiendo el proceso descrito por O'Brien y cols. [22]

2.1.2.3. Calcinación (C)

Tras el lavado previo, se introducen las láminas de Nitinol en un horno y se aumenta la temperatura hasta 600 °C durante 8 h con una rampa de calentamiento de 1 °C/min [23].

2.1.2.4. Oxidación hidrotermal (TH)

Una vez realizado el lavado previo, se introducen las láminas de Nitinol en agua Milli-Q a 100 °C durante 30 minutos [24].

2.1.2.5. Pulido mecánico

Se realizan dos tipos distintos de pulido sobre el sustrato de Nitinol para el estudio:

Pulido Alúmina (PA): en un primer paso, se pulieron las láminas con lijas de SiC con tamaño de grano P600 - P800 - P1200 y se lavaron con abundante agua. En un segundo paso se pulieron con un paño y una dispersión de alúmina de 0,2 µm [25]. A continuación se lavaron con abundante agua Milli-Q, posteriormente se sumergieron en un baño de ultrasonidos con

agua Milli-Q durante 15 minutos para eliminar restos de la alúmina que pudiera existir y se dejó secar.

Pulido Diamante (PD): en un primer paso igual que en el caso anterior, se pulieron las láminas con lijas de SiC P600 - P800 – P1200 y un segundo paso se utilizaron paños con dispersión de micropartículas de polvo de diamante de diferentes tamaños: 3/1/0,25 μm sucesivamente. A continuación se realizó un lavado con abundante agua y un baño de ultrasonidos con agua Milli-Q durante 15 minutos para eliminar restos del polvo de diamante que pudiera existir y se dejó secar.

En ambos casos el pulido se realizó en ambos lados de las láminas. El canto no pudo pulirse por la dificultad que entrañaba debido a su reducido espesor.

2.1.2.6. Pulido diamante seguido de tratamiento hidrotermal

Este pre-tratamiento consiste en pulir la lámina finalizando con un pulido diamante (apartado 2.1.2.5) y a continuación someter al sustrato al tratamiento hidrotermal expuesto en el apartado 2.1.2.4. Este sustrato se denominará como PDTH.

2.1.2.7. Pulido diamante seguido de oxidación química

Este pre-tratamiento consiste en pulir la lámina finalizando con un pulido diamante (apartado 2.1.2.5) y a continuación someter al sustrato al tratamiento de oxidación química expuesto en el apartado 2.1.2.2. Este sustrato se denominará como PDOQ.

2.1.2.8. Tratamiento hidrotermal seguido de pulido diamante

Este pre-tratamiento consiste en someter al sustrato al tratamiento hidrotermal expuesto en el apartado 2.1.2.4 y a continuación pulir la lámina finalizando con un pulido diamante (apartado 2.1.2.5). Este sustrato se denominará como THPD.

2.1.2.9. Oxidación química seguido de pulido diamante

Este pre-tratamiento consiste en someter al sustrato al tratamiento de oxidación química expuesto en el apartado 2.1.2.2 y a continuación pulir la lámina finalizando con un pulido diamante (apartado 2.1.2.5). Este sustrato se denominará como OQPD.

2.1.3. Recubrimiento de láminas de Nitinol con material silíceo

Tanto las láminas sin tratamiento (material recibido) como las láminas que se trataron fueron recubiertas con materiales mesoporosos esféricos de sílice y con cristales de silicalita-1. Se estudió las ventajas e inconvenientes de cada uno de los pre-tratamientos desde el punto de vista químico y mecánico.

2.1.3.1. Recubrimiento con MCM-48

Para recubrir las láminas de Nitinol se siguieron varios métodos:

2.1.3.1.1. Método de Colvin

Se utilizó el Método de Colvin para formar ópalos sintéticos siguiendo el proceso descrito por Colvin y cols. [26].

Las micropartículas sintetizadas previamente de acuerdo con el proceso descrito por Liu y cols. [13] se redispersaron en etanol en una concentración de 1 % en peso. Se colocó la pieza en una posición determinada en un vaso que contenía la dispersión de las partículas y se dejó evaporar a temperatura ambiente. Mediante la evaporación lenta se consiguió que en la superficie de las láminas se formase una capa de microesferas como se indica en la figura 2.3. Después de la evaporación las láminas se sometieron a ultrasonidos durante 20 segundos a una potencia de 360 W para eliminar las microesferas que no se hubieran unido o que lo hubieran hecho de manera débil. Las láminas recubiertas se metieron en un horno a 100 °C.

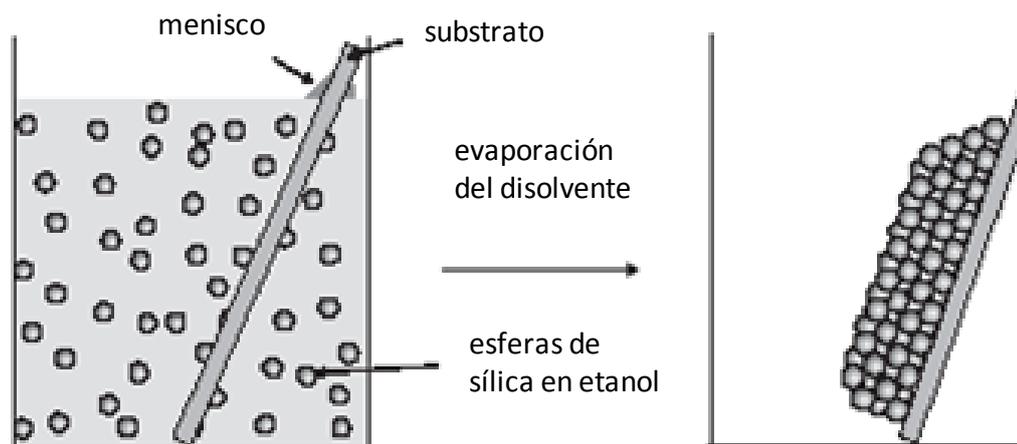


Figura 2.3.- Representación esquemática de la capa de esferas de material silíceo que se forma en la evaporación a temperatura ambiente de la dispersión de esferas de MCM-48 y etanol [27].

2.1.3.1.2. Enlace covalente

Se utilizó el método descrito por Ha y cols. para recubrir vidrio con cristales de zeolita [28].

Siguiendo este método se utilizó 3-cloropropiltrimetoxililano como agente enlazante para unir covalentemente las láminas de Nitinol y el material mesoporoso. Dicho agente enlazante es capaz de unir sus grupos funcionales silano a los grupos hidroxilo de la superficie del Nitinol para formar enlaces siloxano (Si-O-Si). Estos grupos funcionales unidos a la superficie del Nitinol se prepararon hirviendo una solución de tolueno con 3-cloropropiltrimetoxililano bajo un reflujo de argón durante 3 h para unir el agente enlazante a la superficie del Nitinol. A continuación, las láminas se lavaron con tolueno y se secaron. Una vez funcionalizadas, las láminas de Nitinol se sumergieron en una dispersión de microesferas (50 mg en 40 mL de tolueno) y se mantuvieron bajo reflujo durante 3 h. Una vez que concluyó la reacción, las láminas recubiertas del material silíceo, se sumergieron en tolueno fresco y en ultrasonidos durante 20 s para eliminar el material no unido o débilmente unido a las láminas. Para conservarlas, las láminas recubiertas se metieron en un horno a 100 °C.

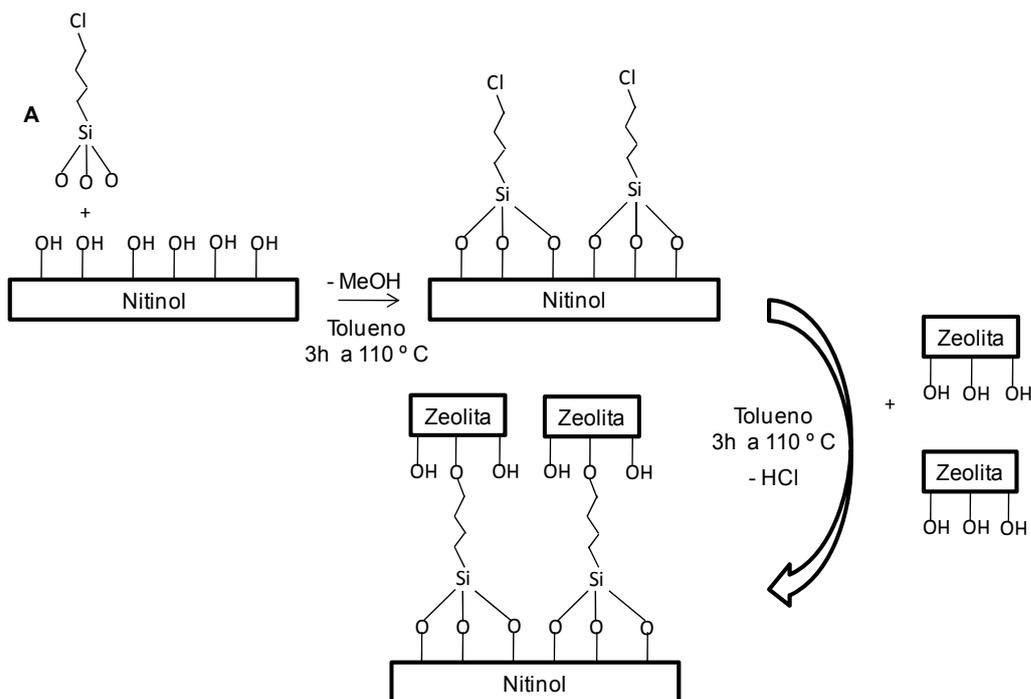


Figura 2.4.- Representación esquemática del enlace covalente basado en el utilizado por Ha y cols [28] ; Kim y cols [29]. A: 3-cloropropiltrimetoxilano.

Después de la formación del enlace covalente no se detectó el tolueno en el recubrimiento de material silíceo al usar FTIR (Fourier transform infrared spectroscopy) que podría contribuir a la potencial toxicidad del material.

2.1.3.2. Recubrimiento con cristales de silicalita-1

Sobre la superficie de las láminas de Nitinol se depositaron cristales de silicalita-1 (sin enlaces entre cristales) y capas (con enlaces entre cristales). Para ello se han utilizado diversos métodos como el del enlace covalente con reflujo de 3 h (apartado 2.1.3.1.2), enlace covalente mediante ultrasonidos y síntesis hidrotermal directa sobre piezas de Nitinol.

2.1.3.2.1. Enlace covalente

En este método es necesaria la preparación previa de los cristales de silicalita-1 tal como se indica en el apartado 2.1.1.3. Estos cristales, se unen covalentemente a las láminas de Nitinol siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 2.1.3.1.2 para las microesferas mesoporosas.

También se utilizó una variación del procedimiento anterior, que es el descrito por Lee y cols. [30], en el que se utiliza la sonicación como fuente de energía para unir covalentemente los cristales de silicalita-1 a la superficie del Nitinol. En este caso se estudió la influencia del tiempo de sonicación en la formación del recubrimiento.

En el primer paso, el agente enlazante 3-cloropropiltrimetoxilano se une a la superficie de las láminas de Nitinol como se describe en el apartado 2.1.3.1.2. A continuación, las láminas de Nitinol se sitúan entre dos láminas de vidrio y son colocadas verticalmente en un vaso que contiene 40 mL de una dispersión de cristales de zeolita en tolueno (50 mg /40 mL). El vaso se coloca en el fondo de un baño de ultrasonidos encima del generador de ultrasonidos a 360 W durante 2, 5 y 10 minutos a temperatura ambiente. Después del proceso la pieza se somete a 30 segundos de ultrasonidos en tolueno para eliminar restos de cristales que no se unieron de manera adecuada. Las láminas recubiertas se mantienen en un horno a 100 °C.

Mediante el enlace covalente, al preparar los cristales de silicalita por separado y posteriormente unirlos a las láminas, lo que se consigue es un enlace covalente entre el cristal y el sustrato, pero no hay enlaces entre cristales próximos. El hecho de que no se formen enlaces entre cristales próximos permite que las tensiones aplicadas a las láminas se acomoden mejor y no produzcan una fractura de la capa. Al funcionalizar exclusivamente el soporte se pretende también formar únicamente una monocapa.

2.1.3.2.2. Síntesis hidrotérmica directa

Este procedimiento se llevó a cabo colocando la pieza de Nitinol directamente en un autoclave sumergido en el gel precursor del crecimiento de los cristales descrito en el apartado 2.1.1.3.

De este modo el crecimiento hidrotérmico de los cristales tiene lugar directamente en la superficie de la pieza de Nitinol. Después de la síntesis las láminas recubiertas son lavadas con agua destilada y secadas. El templante (TPAOH) es eliminado por calcinación a 480 °C durante 8 h con una rampa de

calentamiento/enfriamiento de 0,5 °C/min como se ha dicho anteriormente para minimizar grietas durante la eliminación del mismo. Las láminas de Nitinol recubiertas se mantienen en un horno a 100 °C. En algunos casos la síntesis hidrotermal se repitió varias veces sobre un mismo soporte para conseguir mayor espesor de la capa.

Mediante éste tipo de proceso lo que se consigue es que la cristalización se produzca directamente en la superficie de la pieza y que se produzcan además enlaces entre cristales próximos generando una capa homogénea de cristales de silicalita-1 intercrecidos.

2.1.4. Técnicas de caracterización

2.1.4.1. Microscopia electrónica de barrido (SEM) y espectroscopia dispersiva de rayos-X (EDX)

La microscopia electrónica de barrido (SEM) es una técnica que permite obtener imágenes ampliadas y de alta resolución de la superficie de un material. Los análisis se realizaron en el equipo perteneciente al Servicio de Apoyo a la Investigación de la Universidad de Zaragoza. El equipo utilizado consiste en un microscopio electrónico de barrido modelo JEOL JSM 6400 (figura 2.5) que puede generar imágenes de electrones secundarios y de electrones retrodispersados acelerados con tensiones desde 0,2 a 40 kV.

Esta técnica consiste esencialmente en hacer incidir en la muestra un haz de electrones. En la columna de electrones, éstos se aceleran a través de un campo eléctrico de forma que adquieren energía cinética, que inciden en la muestra. La acción del bombardeo, genera rayos X y electrones además de calor. Estos haces de fotones y partículas son captados con detectores específicos cuyo análisis proporciona información acerca de la morfología y la naturaleza de la muestra. En la figura 2.6 se muestra un esquema de las principales señales obtenidas al incidir el haz de electrones sobre la muestra.

La señal de electrones secundarios proporciona una imagen de la morfología superficial de la muestra, la señal de los electrones retrodispersados

proporciona una imagen cualitativa de zonas con distinto número atómico medio y la señal de rayos X espectros e imágenes de información acerca de la composición de los elementos químicos en la superficie de la muestra [31].



Figura 2.5.- Equipo utilizado para realizar el análisis de microscopía electrónica de barrido (SEM) [32].

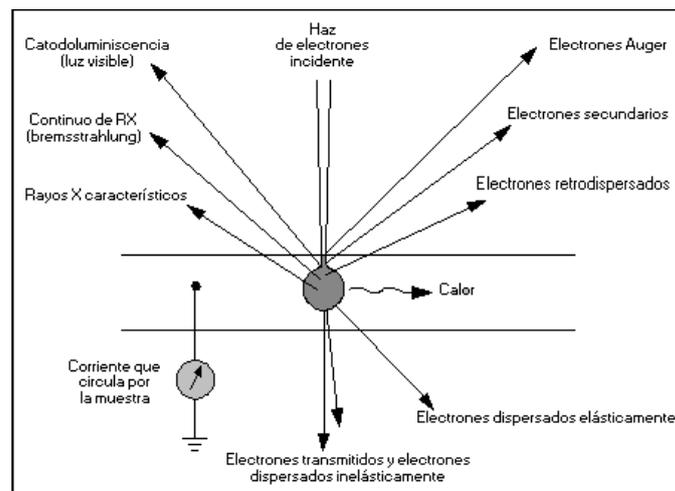


Figura 2.6.- Ilustración esquemática de las principales señales obtenidas como consecuencia de la interacción de un haz de electrones de la muestra [33].

Los análisis de SEM de las láminas se realizaron antes y después de los experimentos de flexión y las láminas no fueron recubiertas con oro para examinarlas. Aunque recubrirlas hubiera proporcionado mejor calidad de imagen, era necesario no recubrir las láminas porque dicho recubrimiento podría enmascarar parcialmente el comportamiento mecánico en los ensayos de flexión.

2.1.4.2. Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS)

Esta técnica permite conocer la composición superficial de la muestra. Consiste básicamente en la excitación mediante un haz de rayos X de los niveles más internos de los átomos, provocando la emisión de fotoelectrones que proporcionan información sobre la energía de cada nivel, y por tanto, sobre la naturaleza del átomo emisor.

Puesto que la energía del haz es $h\nu$, si el fotoelectrón sale con una energía cinética E_k , la diferencia entre ambas es la energía de ligadura (E_L) del átomo en particular, característica de cada elemento. Todo se resume a medir la velocidad de los electrones emitidos mediante el espectrómetro:

$$E_L = h\nu - E_k \quad (2.1)$$

Esta técnica es capaz de obtener la composición química de las superficies de los materiales hasta 1-2 nm de profundidad, en función del ángulo de incidencia. Esta técnica no solo proporciona la composición superficial de un material, sino incluso el estado de oxidación. Se pueden detectar todos los elementos, exceptuando el hidrógeno y la sensibilidad depende de cada elemento en particular. El objetivo principal de esta técnica consiste en dar la composición porcentual de una determinada capa así como el estado de oxidación de los elementos que la forman [34].

El estudio de la superficie del material fue realizado en un Axis Ultra DLD (Kratos Tech.) El espectro fue excitado con una fuente monocromática Al K α (1486.6 eV) operando a 15 kV y 2 mA. El espectro general se midió con una energía de paso de 120 eV y para regiones de picos individuales, se usó una energía de paso de 20 eV. Los análisis de los picos se realizaron con el software proporcionado por el fabricante. Las energías de enlace se refirieron respecto al pico C1s del carbón adventicio a 289,9 eV.

Se realizaron medidas en profundidad para estimar el espesor de la capa de pasivación siguiendo la evolución de la concentración del oxígeno

atómico y analizando la variación de la relación Ni/Ti a diferentes profundidades. Después del decapado de la superficie del Nitinol a diferentes tiempos se midió la composición del material en función de la profundidad usando un cañón de iones Ar^+ con una energía de incidencia de 5 keV y una corriente de 20 mA. La velocidad de *decapado* se estima en $3,75 \text{ nm} \cdot \text{min}^{-1}$ bajo las condiciones utilizadas. Se bombardeó la muestra bajo diferentes ángulos 15, 30, 45, 60 y 75° (respecto a la normal de la superficie).

2.1.4.3. Difracción de rayos X (XRD)

La difracción de rayos X es un método de alta tecnología no destructivo para el análisis de materiales. La aplicación fundamental de la difracción de rayos X es la identificación cualitativa de la composición de fases o materiales a través de su estructura cristalina [35].

La difracción está basada en las interferencias que se producen cuando una radiación monocromática atraviesa una rendija de espesor comparable a la longitud de onda de la radiación. Los rayos X tienen longitudes de onda del mismo orden que las distancias interatómicas de las dimensiones de las celdillas de las redes cristalinas. El método analítico de Debye-Scherrer consiste en irradiar con rayos X sobre una muestra formada por multitud de cristales colocados al azar en todas las direcciones posibles. Los picos asociados a las interferencias constructivas vienen dados por la Ley de Bragg:

$$n\lambda = 2d \cdot \sin\theta \quad (2.2)$$

donde n es un número entero, λ es la longitud de onda de los rayos X, d es la distancia entre los planos interatómicos que producen la difracción y θ es el ángulo entre los rayos incidentes y los planos de dispersión.

El equipo utilizado es un difractómetro Rigaku/Max usando radiación $\text{Cu K}\alpha$.

2.1.4.4. Medidas de ángulo de contacto

La medida de ángulo de contacto nos proporciona información macroscópica sobre la mojabilidad de la superficie del material, o dicho de otro modo, si la superficie del material es hidrofóbica o hidrofílica. También aporta información sobre la tensión superficial del material [36].

Se considera que los biomateriales hidrofóbicos pueden provocar el inicio de la reacción del cuerpo humano frente a cuerpos extraños. La presencia de iones en la superficie del material puede interactuar con los receptores de las células para provocar su adhesión y crecimiento y facilitar la proliferación celular, provocando por lo tanto su reacción [36] o contrariamente tener efectos perjudiciales dependiendo de su naturaleza.

Las medidas de ángulo de contacto fueron realizadas en un CAM 100 System (KSV Instruments, Finlandia), usando una cámara [*Digital CCD fire-wire* (IEEE 1394) con una lente de 50 mm]. El rango de medida varía desde $\theta = 0^\circ$ hasta $\theta = 180^\circ$ con un error de $\pm 0,1^\circ$.

2.1.4.5. Rugosidad superficial

La rugosidad superficial se midió utilizando medidas de microscopio confocal e interferometría con aparato de imagen óptica de perfilometría PL μ 2300 de Sensofar-Tec S.L. con interferómetro de 0,1 nm a 1 nm y sistema de medida (Veeco In.) del Instituto de Ciencias de los Materiales de Aragón (ICMA), Instituto mixto de la Universidad de Zaragoza-CSIC que se muestra en la figura 2.7.

Esta técnica combina las dos técnicas de medida no destructivas de la metrología de superficies sin contacto:

- El sistema confocal con repetibilidad vertical inferior a 50 nm y una resolución lateral de 0,935 a 0,311 μ m.
- El sistema interferómetro que utiliza la longitud de la luz como elemento de medida. Este equipo presenta una resolución vertical de

0,1 nm en superficies muy lisas y resolución lateral 0,701 y 0,935 μm [37].

La microscopía interferométrica es una técnica de no contacto para la caracterización de superficies en tres dimensiones. Los objetivos interferométricos disponen de un divisor de haz que envía una parte de la luz a la superficie de la muestra y otra parte a un espejo de referencia. La luz reflejada de estas dos superficies se recombina formando bandas de interferencia que se recogen en una cámara CCD. Para cada punto de la superficie existe una distancia del objetivo a la muestra que proporciona el enfoque que es definido por la intensidad máxima de pico en las bandas de interferencia. Mediante un barrido vertical se localizan los puntos de enfoque para cada punto de la muestra, generando así un mapa tridimensional de la superficie con una resolución sub-nanométrica en el eje vertical.

La tecnología confocal permite la realización de mapas tridimensionales con resolución nanométrica, y es la solución ideal para analizar pendientes pronunciadas o superficies muy curvadas [38].

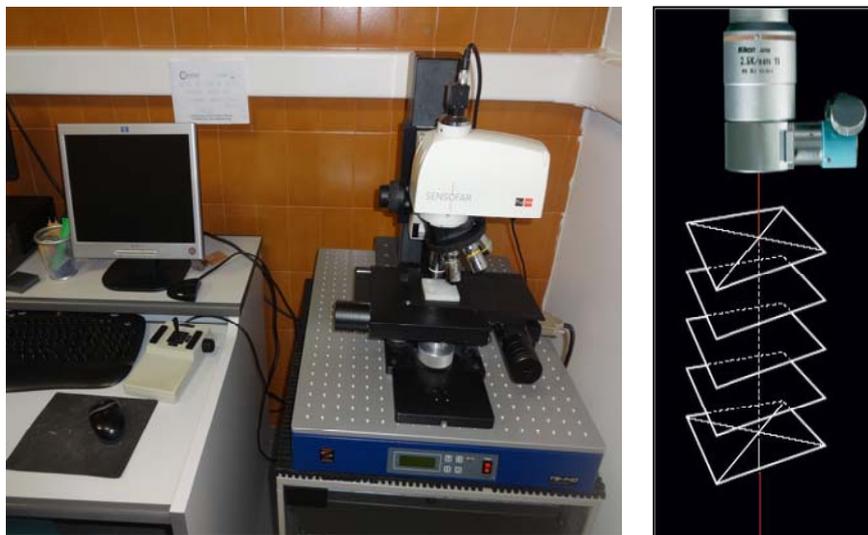


Figura 2.7.- Equipo utilizado para realizar las medidas de rugosidad superficial [37].

2.1.4.6. Espectroscopia de emisión atómica en plasma (ICP)

Mediante la espectroscopia de emisión con plasma de acoplamiento inductivo es posible determinar de forma cuantitativa la mayoría de los elementos de la tabla periódica a niveles de traza (ppm o $\mu\text{g/mL}$) y ultratrazas (ppb o ng/mL), partiendo de muestras en disolución acuosa.

La muestra, en forma líquida, es transportada por medio de una bomba peristáltica hasta el sistema nebulizador donde es transformada en aerosol gracias a la acción de gas argón. Dicho aerosol es conducido a la zona de ionización que consiste en un plasma generado al someter un flujo de gas argón a la acción de un campo magnético oscilante inducido por una corriente de alta frecuencia. En el interior del plasma se pueden llegar a alcanzar temperaturas de hasta 8000 K. En estas condiciones, los átomos presentes en la muestra son ionizados/excitados y al volver a su estado fundamental, emiten radiaciones de una longitud de onda que es característica de cada elemento. Esta radiación pasa a través de un sistema óptico que separa la radiación según su longitud de onda. A continuación un detector mide la intensidad de cada una de las radiaciones relacionando ésta con la concentración de cada elemento en la muestra.

Las medidas de la cantidad de Níquel lixiviado se realizaron mediante espectroscopia de emisión atómica en plasma (ICP-AES). La concentración mínima capaz de ser medida corresponde a 0,017 mg/L de Níquel y 0,019 mg/L de Titanio [39]. Utilizando esta técnica se realizaron los siguientes ensayos:

2.1.4.6.1. Experimentos de lixiviación de níquel

Dichos ensayos se realizaron sumergiendo las láminas de Nitinol en una disolución salina conocida como SBF (Fluido Biológico Simulado) preparada en agua Milli-Q cuya composición aparece en la tabla siguiente, (todos los reactivos proporcionados por Sigma-Aldrich):

Tabla 2.2.- Composición química de la disolución de SBF [40]

COMPONENTE	CANTIDAD (mol/l)
NaCl	0,137
KCl	0,003
NaHCO ₃	0,004
K ₂ HPO ₄ ·3H ₂ O	1·10 ⁻³
MgCl ₂ ·6H ₂ O	1,5·10 ⁻³
CaCl ₂	2,5·10 ⁻³
Na ₂ SO ₄	5·10 ⁻⁴
NH ₂ C(CH ₂ OH) ₃	0,05

La disolución se ajusta a pH = 7,4 con HCl 1 N de acuerdo con el proceso descrito en la literatura [40]. Se mantiene en la nevera hasta que se usa, nunca por un periodo superior a 1 mes para evitar que la disolución se pueda estropear.

La metodología seguida para el experimento de lixiviación de níquel es la siguiente:

- 1) Se preparan siete láminas de Nitinol para cada uno de los tratamientos siguientes (ver apartado 2.1.2):
 Recibido, Oxidación química (HNO₃ 20 % 20 min 80 °C), Hidrotermal (H₂O 30 min 100 °C), Pulido Normal (360-1200 SiC + 0,2 µm alúmina), Pulido diamante (360-1200 SiC + 3 / 1 / 0,25 µm diamante), Método de Colvin (por las dos caras de micropartículas esféricas) y

pulido diamante + enlace covalente (por las 2 caras con cristales de silicalita).

- 2) Se prepara la disolución de Fluido Biológico Simulado (SBF) anteriormente descrita.
- 3) Se mete cada una de las láminas en un vial con un volumen de SBF de 10 mL en un horno a 37 °C durante el periodo deseado: 6 h, 19 h, 30 h, 3 días, 5 días, 15 días y 30 días. La disolución se mantuvo a 37 °C durante el periodo de tiempo deseado con un pH comprendido entre 7,3 y 7,4.
- 4) Cuando se cumple el tiempo deseado, se saca la lámina correspondiente y se guarda el fluido en la nevera, hasta reunir todas las muestras. Los viales fueron sellados para prevenir pérdidas de fluido por evaporación y el volumen del ensayo fue medido después de cada experimento para comprobar que el volumen inicial se mantenía constante. Se llevan todas las disoluciones al laboratorio central de análisis de la Universidad de Zaragoza para su análisis por espectroscopia de emisión atómica en plasma ICP.
- 5) La última lámina de cada tratamiento que ha permanecido en el fluido durante un mes, se mete en otros 10 mL de SBF y se deja en la estufa a 37 °C otros 43 días con la intención de ver si se sigue produciendo lixiviación de níquel tras el mes que ha permanecido en el SBF.

2.1.4.6.2. Estudio de la influencia del canto en la lixiviación de níquel

Los procesos de oxidación química y tratamiento hidrotermal afectaban a toda la pieza de Nitinol mientras que los pulidos tanto el de acabado en diamante como acabado en alúmina sólo afectaban a la superficie mientras que los cantos permanecían sin pulir, aspecto que podría afectar a la liberación total de níquel. Para ello se realizaron unos experimentos adicionales de liberación de níquel utilizando alambre de Nitinol donde la influencia de los cantos es insignificante respecto del volumen total de la pieza. Estas medidas darían una idea de la contribución total de los cantos a la liberación total de níquel. La metodología llevada a cabo en este apartado es la misma que la explicada anteriormente:

- 1) Se prepararon muestras de Nitinol con distintas relación de área de canto y área total (A_C/A_T). Se cortaron muestras de $5 \times 5 \times 1 \text{ mm}^3$, $15 \times 3 \times 1 \text{ mm}^3$, $10 \times 10 \times 1 \text{ mm}^3$, $20 \times 20 \times 1 \text{ mm}^3$, $30 \times 30 \times 1 \text{ mm}^3$ tres muestras para cada tamaño y período de tiempo. Se prepararon también alambres con los siguientes tratamientos:
Oxidación química (HNO_3 20 % 20 min 80 °C), Hidrotermal (H_2O 30 min 100 °C), Pulido Normal (360-1200 SiC + 0,2 μm alúmina). En el caso del alambre, el material recibido ya había sido sometido a un pre-tratamiento de pulido. Se añadieron tres láminas más de $15 \times 3 \times 1 \text{ mm}^3$, 1 de ellas envuelta en cinta aislante, otra envuelta en parafina y otra sellada con laca de uñas.
- 2) Todas las piezas se sumergieron en SBF de tal manera que la relación área sumergida y volumen de SBF se conservaba en todas ellas. Las muestras se mantuvieron bajo agitación periódica para minimizar la limitación de difusión externa. El periodo de tiempo fue de 5, 15 y 30 días. Las muestras se tomaron de la misma manera que se explica en el apartado 2.1.4.6.1.

2.1.4.6.3. Estudio de la influencia de la combinación de tratamientos en la lixiviación de níquel

En el presente trabajo también se ha querido estudiar la influencia de combinar dos tratamientos para mejorar los resultados, ver su influencia y capacidad de detener la lixiviación de níquel al medio. La combinación de tratamientos ha dado como resultados los sustratos denominados PDTH, PDOQ, THPD y OQPD indicados en el apartado 2.1.2:

La metodología seguida ha sido:

- 1) Se prepararon tres muestras para cada tratamiento y período de tiempo.
- 2) Todas las láminas se sumergieron en 10 mL de SBF bajo agitación periódica para minimizar la limitación de difusión externa. Los periodos de tiempo fueron de 5, 15 y 30 días. Las muestras se tomaron de la misma manera que la descrita anteriormente en el apartado 2.1.4.6.1.

2.1.4.7. Análisis de superficie específica mediante adsorción de N₂ (método BET)

La adsorción física (o fisisorción) de gases y vapores (adsorbatos) en sólidos (adsorbentes) es una de las técnicas más usadas para el estudio de la textura porosa de sólidos de todo tipo. En la caracterización de la textura porosa de un sólido, los parámetros a determinar son la superficie específica, el volumen y la distribución de los poros. Para la determinación de estos parámetros se puede recurrir, entre otra técnica, a la adsorción de un gas (N₂, CO₂, hidrocarburos, etc.) a temperatura constante, obteniéndose así la isoterma de adsorción-desorción [41]. A partir de los resultados de las isotermas de adsorción-desorción de gases se emplea el procedimiento de Brunauer, Emmet y Teller (BET) para la medida de la superficie específica, restringido a materiales mesoporosos o macroporosos. El procedimiento BET

implica que todos los sitios de adsorción son iguales, despreciando interacciones entre moléculas en la fase gas. Conociendo la cantidad de gas adsorbido necesario para formar una monocapa y el área que ocupa una de las moléculas adsorbidas, se puede estimar la superficie específica del sólido. En estas condiciones, la cantidad de gas adsorbido necesario para la formación de la monocapa puede estimarse según la ecuación [42,43]:

$$\frac{P}{V_{ads}(P_0 - P)} = \frac{1}{V_{mc} \cdot C} + \frac{(C-1)}{V_{mc} \cdot C} \cdot \frac{P}{P_0} \quad (2.3)$$

donde, P_0 es la presión de vapor, V_{mc} es el volumen de la monocapa y C una constante para cada sistema sólido gas relacionada con el calor de adsorción de la monocapa (q_1) y el calor de licuefacción del gas (q_L) dada por la expresión (2.4):

$$C = \exp\left(\frac{q_1 - q_L}{R \cdot T}\right) \quad (2.4)$$

La superficie específica de los materiales se calcula a partir de los valores de V_{mc} asumiendo que la superficie específica S_{BET} responsable de la adsorción del gas depende de V_{mc} y de la masa de sólido empleado.

$$S_{BET} = \frac{V_m \cdot N_A \cdot S}{V_{mc} \cdot m} \quad (2.5)$$

donde V_m es el volumen molar del gas, N_A la constante de Avogadro ($6,023 \cdot 10^{23}$), S la sección de cada molécula adsorbida sobre la superficie ($S [N_2] = 16,2 \text{ \AA}$) y m la masa de sólido.

Las áreas BET, isothermas de adsorción-desorción y distribución de tamaños de poro se obtuvieron por medio de un aparato Micromeritics ASAP 2020 V1 a $-196 \text{ }^\circ\text{C}$.

Las curvas de adsorción-desorción se pueden agrupar en seis clases según la clasificación de la IUPAC [44] tal y como se observa en la figura 2.8.

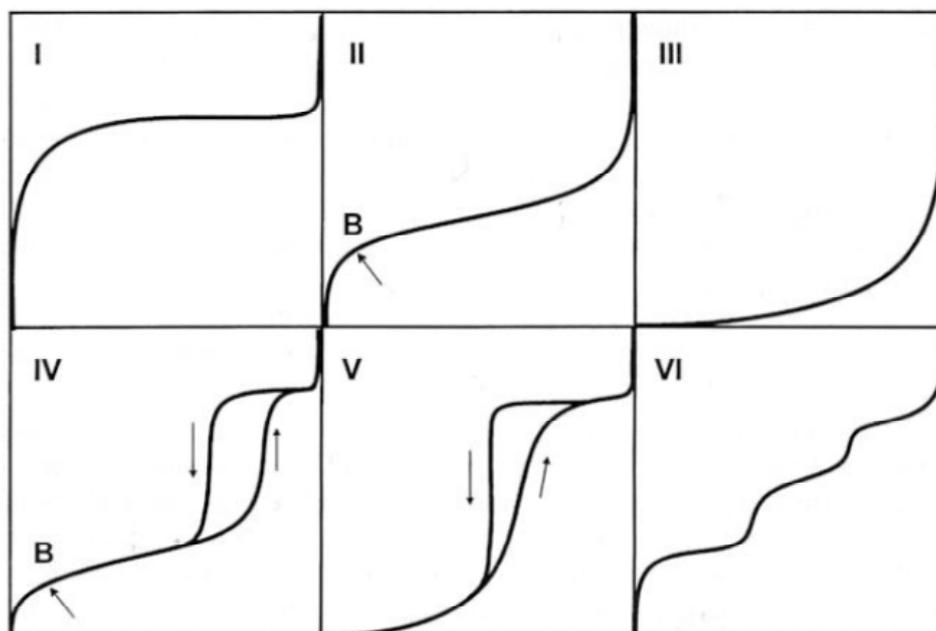


Figura 2.8.- Tipos de isothermas de adsorción según la IUPAC [44].

Las isothermas tipo I son características de los materiales microporosos y se caracteriza porque la adsorción se produce a presiones relativas bajas, este es el caso de las zeolitas que tienen tamaño de poros menores de 2 nm. La isoterma tipo II es característica de los sólidos no porosos o macroporosos (mayor de 50 nm), se asume que en el punto B se ha completado la formación de la capa monocapa y empieza la formación de multicapas. La ordenada del punto B nos da una estimación de la cantidad de adsorbato requerido para cubrir por unidad de masa, la superficie del sólido con una capa monocapa. La isoterma tipo III es característica de las interacciones débiles entre adsorbente y adsorbato, se ha observado por ejemplo con agua en negros de carbón grafitizados. La isoterma tipo IV es característica de los materiales mesoporosos (tamaño de poro entre 2 y 5 nm) y la aparición del ciclo de histéresis se debe al fenómeno de condensación capilar. La isoterma tipo V también es características de interacciones débiles entre adsorbato y adsorbente y el ciclo de histéresis está asociado con el mecanismo de llenado y vaciado de poros. La isoterma tipo VI es asociada con la adsorción capa por

capa sobre superficies altamente homogéneas respecto del adsorbato. La forma del escalón depende de la temperatura y ocurre sólo para sólidos con una superficie no porosa muy uniforme. Este tipo de isoterma se ha observado en la adsorción de gases nobles en carbón grafitizado [45].

2.1.4.8. Método potenciodinámico

El método potenciodinámico es probablemente el análisis electroquímico de corriente continua más empleado en la actualidad. Quizás su mayor problema es que se trata de un ensayo destructivo, ya que altera notablemente el estado de la muestra ensayada.

Mediante este método, se obtiene la curva de polarización del material ya que se registra la intensidad (respuesta del sistema) frente a un barrido de potencial (excitación). Éste experimento aporta una idea general de las reacciones de corrosión en un amplio rango de potencial. Es un experimento adecuado para ilustrar la acción de inhibidores de la corrosión, elementos de aleación, pasividad, etc.

Hay que hacer notar que el barrido de potencial puede realizarse de forma ascendente o descendente, dando lugar a curvas cíclicas de polarización si se alternan adecuadamente los sentidos de barrido. Estas curvas cíclicas permiten evaluar la agresividad del ensayo realizado.

La pasivación de un metal, en lo que concierne a la corrosión, tiene que ver con la formación de una capa superficial de protección de productos de reacción que inhiben reacciones posteriores. En otras palabras, la pasivación de los metales se refiere a su pérdida de reactividad química en presencia de unas condiciones ambientales particulares. Muchos metales y aleaciones importantes en ingeniería se pasivan y se vuelven muy resistentes a la corrosión en entornos oxidantes de moderados a fuertes. Ejemplos de metales y aleaciones que muestran pasividad son el acero inoxidable, titanio, aluminio y muchas de sus aleaciones.

Cuando un metal, en un medio corrosivo específico, se le somete a un potencial de corrosión creciente, las intensidades de corrosión pueden describir una curva de polarización como la que se muestra a continuación [46].

La figura 2.9 presenta una curva de polarización típica para un material metálico pasivable. En esta figura se puede distinguir claramente diversos puntos de gran importancia.

Por ejemplo, el potencial de corrosión (E_{corr}), en la figura E_{M/M^+} , es muy fácilmente identificable por ser dónde se cruzan las ramas anódicas y catódicas del ensayo (punto A). Este potencial de corrosión sería el potencial para el que se daría la reacción de corrosión en el electrolito en equilibrio. Este potencial de corrosión lleva asociada una corriente de corrosión (i_{corr}), en la figura $i_{\text{O}M/M^+}$, la cual constituye la referencia de la cinética del proceso de corrosión. Cuanto mayor sea el valor de esta intensidad de corrosión, más rápido será el proceso corrosivo.

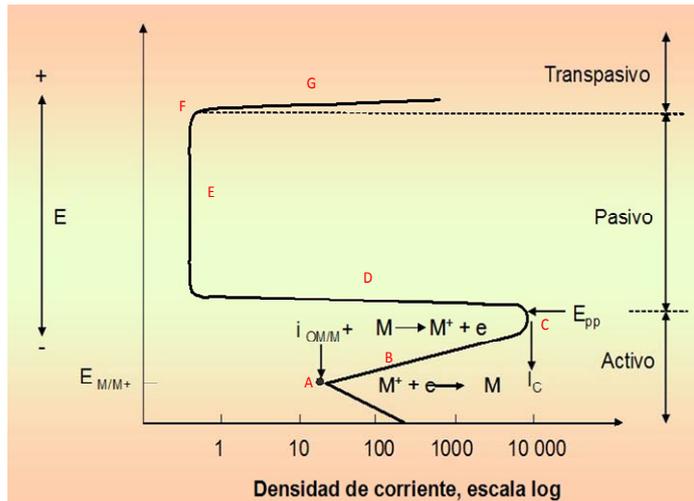


Figura 2.9.- Curvas de polarización de un metal pasivo [46].

Conforme recorremos la rama anódica de la curva de polarización (desde E_{corr} hacia potenciales mayores) observamos un aumento en la intensidad (zona B), hasta que llegado a un nivel de potencial (punto C), la intensidad deja de aumentar. A este potencial de se le denomina potencial de pasivación, en la figura E_{pp} , que lleva asociada una intensidad crítica específica i_c . Si se sigue aumentando el potencial, observamos que la intensidad reduce su valor (zona D) hasta estabilizarse en una intensidad que se conoce como i_{pasiva} . Por tanto, hemos encontrado una zona de la curva en la que para un intervalo de potencial bastante amplio no hay una variación apreciable de la intensidad (zona E). Es la llamada zona de pasivación.

Esta zona acaba cuando al ir aumentando el potencial llega un momento en el que la intensidad empieza a aumentar significativamente (punto F). A ese potencial se le denomina potencial de transpasivación y a la región que encontramos a potenciales mayores (zona G) se le denomina zona de transpasivación.

El valor de la intensidad de corrosión para el material puede calcularse mediante el método de Tafel tomando la zona próxima al potencial de corrosión y operando adecuadamente [47].

2.1.4.8.1. Instalación de ensayos de corrosión

Para su realización se ha empleado el equipo PGP-201 (potenciostato/galvanostato) controlado por el ordenador mediante un protocolo RS-232 y un software comercial (figura 2.10). Mediante este ensayo se obtiene la curva potencial frente a intensidad, la cual describe de forma cualitativa y cuantitativa el comportamiento ante la corrosión del material ensayado en el medio elegido.



Figura 2.10.- Instalación completa de medidas electroquímicas.

La celda de medida, además del electrodo de trabajo, está formada por el electrodo auxiliar y el de referencia que es de Radiometer Copenhagen modelo XR110 y XM110 respectivamente (figura 2.11). El electrodo de

referencia es un electrodo de calomelano (SCE) caracterizado por un potencial de -421 mV respecto del electrodo estándar de hidrógeno. Todos los potenciales denominados como mV SCE están referidos a este electrodo de referencia. El electrodo auxiliar es un electrodo de platino en forma de hilo, que expone un área a la disolución de 31,42 mm².

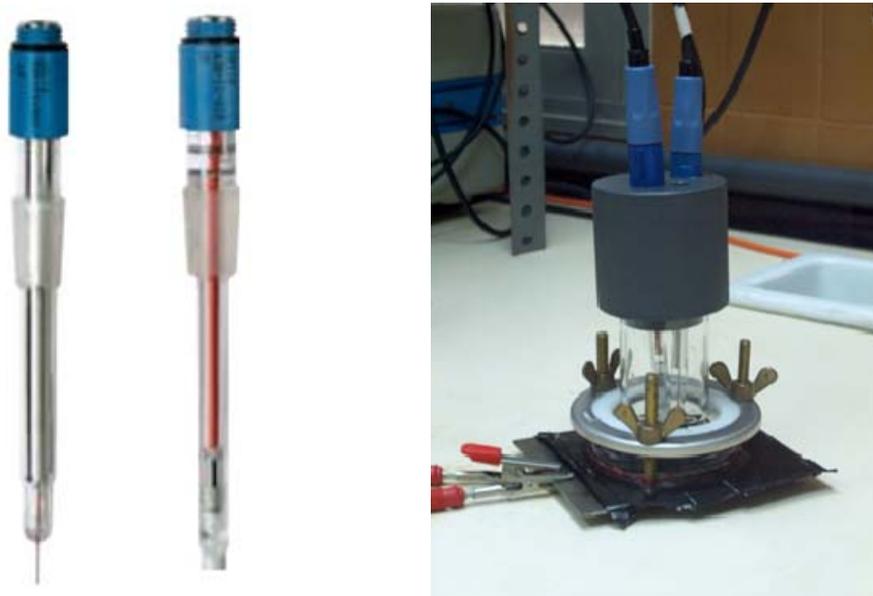


Figura 2.11.- Electrodo de auxiliar, electrodo de referencia y celda de trabajo montada.

Los ensayos se realizaron a temperatura ambiente debido a la imposibilidad de regular la temperatura en la celda de discos. El electrolito empleado para los ensayos es la solución salina fisiológica conocida como solución de Hanks, cuya composición aparece en la tabla 2.3.

Tabla 2.3.- Composición química de la solución de Hanks

COMPONENTE	CANTIDAD (mol/l)
NaCl	0,137
KCl	0,005
NaHCO ₃	0,004
C ₆ H ₁₂ O ₆	0,006
NaH ₂ PO ₄	8,33·10 ⁻⁴
Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	3,37·10 ⁻⁴
MgSO ₄ ·7H ₂ O	2,43·10 ⁻⁴

2.1.4.8.2. Experimentos de corrosión

El procedimiento que se ha seguido en la realización de los ensayos potenciodinámicos se ajusta lo máximo posible a la normativa vigente:

- ASTM F 746-87 "*Pitting or Crevice Corrosion of metallic Surgical Implant Materials*".
- ASTM G 5-94 "*Making Potenciostatic and Potenciodynamic Anodic Polarization Measurements*".
- ASTM G 1-90 "*Preparing, Cleaning, and Evaluating Corrosion Test Specimens*".
- ASTM G 15-99b "*Corrosion and Corrosion Testing*".
- ASTM G 3-89 "*Conventions applicable to Electrochemical Measurements in Corrosion Testing*".
- ASTM G 102-89 "*Calculation of Corrosion Rates and Related Information from Electrochemical Measurements*".
- UNE 112004:94 "Corrosión de metales y aleaciones. Vocabulario"

La metodología establecida para el proceso de medidas electroquímicas, una vez conservadas las normas anteriormente señaladas, se puede resumir en los siguientes pasos:

1) Preparar la celda electroquímica

1.1) Limpiar la celda, los electrodos de referencia y auxiliar con agua destilada hasta tres veces.

1.2) Rellenar el electrodo de referencia de Calomelano con la solución saturada de KCl si fuese necesario.

1.3) Preparar el electrodo de trabajo (pieza de nitinol):

1.3.1) Limpieza en un baño de ultrasonidos con etanol durante 3 minutos.

1.3.2) Comprobar la conducción del sistema formado electrodo de trabajo y placa soporte.

1.3.3) Cubrir la superficie del electrodo de trabajo mediante cinta adhesiva perforada y cubrir el borde del orificio con Lacomite o Araldit.

2) Colocar los electrodos en el soporte, rellenar la celda de 40 mL de solución y estabilizarla durante 45 minutos.

3) Ensayo potenciodinámico.

Una vez se ha estabilizado todo, se realiza un barrido de potencial desde -1000 mV hasta 2000 mV estableciendo la corriente de corte en 0.25 mA y una velocidad de barrido 10 mV/min.

2.1.4.9. Caracterización mecánica

Mediante esta técnica de caracterización mecánica se comprobó si el sustrato conservaba la propiedad de superelasticidad.

2.1.4.9.1. Instalación de ensayos de flexión por 3 puntos

Los ensayos mecánicos de flexión sobre el sustrato y el sustrato con recubrimiento fueron realizados en un aparato Instron 5565 a una velocidad de desplazamiento de la mordaza de 1 mm/min hasta alcanzar una deformación de 1 ó 2 mm (ver figura 2.12).



Figura 2.12.- Instalación para las medidas de flexión por tres puntos.

Este ensayo evalúa el comportamiento carga-deformación y la resistencia a la flexión del material.

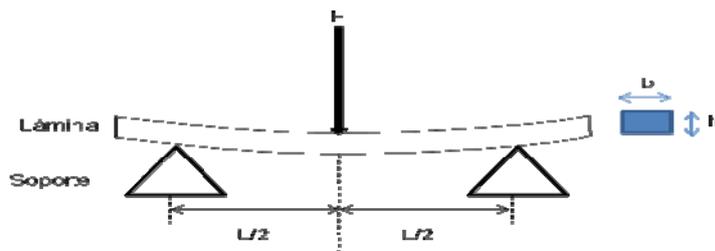


Figura 2.13.- Esquema del ensayo de flexión por tres puntos [48].

Para una lámina, la tensión de tracción máxima alcanzada entre el punto opuesto al de la aplicación de la carga es [48]:

$$\sigma = \frac{3FL}{2bh^2} \quad (2.6)$$

donde, F es la carga aplicada, L la distancia entre los puntos de apoyo y b y h las dimensiones de la sección transversal.

2.1.4.9.2. Experimentos de flexión por 3 puntos

La temperatura a la que el Nitinol se comporta de manera superelástica es una función del % níquel en el material. Como hemos dicho anteriormente, el material que se utiliza para este trabajo tiene el % de níquel necesario (50,8 %) para que tenga dicha propiedad a temperatura ambiente. De manera que, una vez realizados todos los pretratamientos y recubrimientos sobre el sustrato hay que comprobar dos cosas:

- que el pretratamiento o recubrimiento no afecta a su superelasticidad.
- la fortaleza del enlace entre el recubrimiento y el sustrato es lo suficientemente fuerte como para soportar las pruebas de tensión a las que se le somete.

Para determinar estos dos aspectos, todas las láminas con pretratamiento fueron sometidas a ensayos de flexión por tres puntos. Dichos ensayos consisten en colocar la muestra entre dos puntos de apoyo y someterla a una fuerza central hasta una deformación de 1 a 2 mm con una velocidad de desplazamiento de 1 mm/min.

Desde el punto de vista mecánico, en los ensayos de flexión, debería existir un comportamiento diferente entre recubrimientos sin enlaces entre cristales y recubrimientos en los que existieran enlaces entre cristales y capas adyacentes o multicapas. Es razonable pensar que en un ensayo de flexión la fuerza se transmite a los cristales adyacentes cuando existe enlace entre ellos.

Para la realización de los ensayos se utilizó una máquina Instron 5565 controlada por el programa “Merlín”. La metodología consiste en:

- 1) Se introducen las siguientes especificaciones:
 - a. Máximo de carga: 0,5 N.
 - b. Velocidad: 1 mm/min.
 - c. Si la extensión alcanza 3,2 mm detener ensayo.
 - d. Deformación: (1 mm ó 2 mm, según experimento).
 - e. Proceso de relajación una vez alcanzada la deformación deseada.

- 2) Colocar la lámina, de medidas $15 \times 3 \times 1 \text{ mm}^3$, en el bastidor cuya separación entre los puntos de apoyo es de 10 mm. Aquellas que tenían el recubrimiento de material silíceo se colocaron de tal manera que el recubrimiento quedaba apoyada en los puntos de apoyo y la parte contraria a la fuerza aplicada como se indica en la figura 2.13.

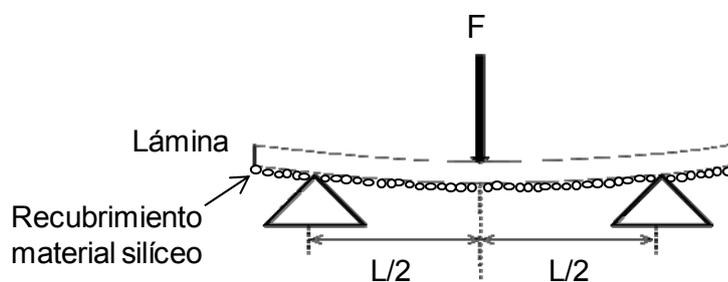


Figura 2.13.- Representación esquemática del ensayo de flexión por tres puntos con material silíceo.

- 3) Calibrar el aparato, balancear la carga y poner a cero la distancia entre el bastidor y la lámina.
- 4) Iniciar el ensayo
- 5) Una vez finalizado se guardan los datos.

2.2. Estudio de liberación de fármacos

En este apartado se pretende estudiar la liberación de linezolid (apartado 2.2.1.1.4) desde dos tipos de dispositivos implantables distintos, uno de ellos corresponde a un lecho de material silicio, que previamente ha sido cargado de fármaco, empaquetado en el interior de un dispositivo hueco y de pared porosa. El segundo tipo de dispositivo consiste en un tornillo hueco y pared no porosa cuyo vástago ha sido perforado, para a continuación, sintetizar una membrana de material silíceo a través de la cual se liberará el fármaco encapsulado en el interior del tornillo.

2.2.1. Liberación desde lecho empaquetado

2.2.1.1 Materiales utilizados

2.2.1.1.1. SBF (Fluido Biológico Simulado)

Preparado de la misma manera que el descrito en el apartado 2.1.4.6.1.

2.2.1.1.2. MCM-41

Para la síntesis de MCM-41 se han empleado el método descrito por Kumar y cols. [49], los compuestos se reflejan en la tabla 2.4.

Tabla 2.4.- Gel de síntesis MCM-41 [49]

COMPONENTE	CANTIDAD (moles)
NH ₄ OH (Merck KGaA 25 %)	0,118
CTAB (Aldrich 95 %)	0,011
TEOS (Aldrich)	0,072
Agua Milli-Q	9,072

La disolución obtenida se ajustó a pH = 11,5 y se dejó bajo continua agitación magnética durante 2 horas. Seguidamente, se procedió a filtrar el material obtenido usando papel de filtro 150/125, y se realizó el lavado con un litro de agua caliente y dos lavados con etanol. Finalmente el material se secó

en la estufa y se procedió a calcinar a 550 °C durante 12 horas a una rampa de calentamiento de 0,5 °C/min para eliminar el agente estructurante (CTAB) y liberar la estructura porosa

2.2.1.1.3. Microesferas mesoporosas MEM

Para la síntesis de MEM, que partículas de 400 nm, se han empleado los compuestos que se reflejan en la tabla 2.5:

Tabla 2.5.- Gel de síntesis MEM [50]

COMPONENTE	CANTIDAD (moles)
Etanol (Panreac)	0,521
NH ₃ (Panreac 25 %)	1,693
CTAB (Aldrich 95 %)	0,012
TEOS (Aldrich)	0,019
Agua Milli-Q	4,35

La mezcla se deja agitando durante 2 horas a temperatura ambiente. Después se lava con agua Mili-Q (aproximadamente 1 L) y una vez más con etanol. Se calcina a 550 °C durante 6 horas con una rampa de 0,5 °C/min siguiendo el procedimiento descrito por Lebedev y col. [50].

2.2.1.1.4. SBA-15

Para la síntesis de SBA-15 se han empleado los siguientes compuestos:

Tabla 2.6.- Gel de síntesis SBA-15 [51]

COMPONENTE	CANTIDAD (moles)
Pluronic 123 (Aldrich)	$3,45 \cdot 10^{-4}$
KCl (Riedel-deHaen)	0,03
TEOS (Aldrich)	0,02
HCl (Panreac 37 %)	0,010
Agua Milli-Q	2,78

La mezcla se mantiene en agitación a una temperatura de 38 °C durante 24 horas. A continuación se introduce la mezcla en un autoclave a 100 °C durante 24 horas, después se filtra y se lava la muestra primero con agua Milli-Q caliente (aproximadamente 1L) y luego con etanol. Por último se seca la muestra en la estufa y se calcina a 525 °C durante 3 horas con una rampa de calentamiento de 0,5 °C/min según el procedimientos seguido por Yu y cols. [51].

2.2.1.1.5. Linezolid

Se ha elegido el linezolid CAS No. [165800-03-3] para este estudio porque es un antibiótico de amplio espectro y poco estudiado por su relativa reciente aparición. Las oxazolidinonas, entre las que se encuentra el linezolid representan una nueva clase de agentes bactericidas con gran actividad contra organismos gram-positivos [52,53]. Su aplicación se extiende a varios tipos de infecciones nosocoidales (ver apartado 1.4.2.1.) y posee las siguientes propiedades físicas y químicas:

- Fórmula empírica: $C_{16}H_{20}FN_3O_4$
- $M_{mol} = 337.14 \text{ g/mol}$
- $L = 1,50 \text{ nm}$
- $W = 0,45 \text{ nm}$
- $S_{mol} \text{ (Connolly)} = 3,13 \text{ nm}^2$
- $V_{mol} \text{ (Connolly)} = 0,260 \text{ nm}^3$
- $\Delta H_{tot} = 21,8 \text{ kcal/mol}$
- $\Delta H_{dip} = -0,67 \text{ kcal/mol}$

La estructura molecular es la que se presenta a continuación:

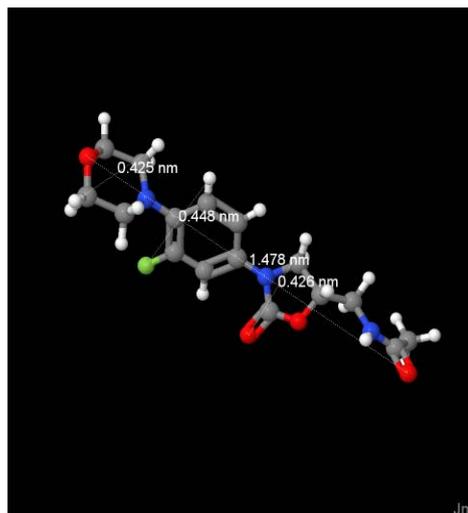
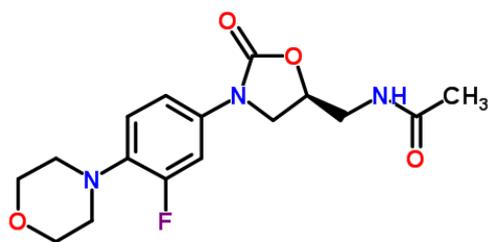


Figura 2.14.- Estructura molecular del linezolid [54].

Por otra parte, la longitud de onda a la cual absorbe la radiación UV es $\lambda = 251 \text{ nm}$ ya que el fármaco posee bandas de absorción muy intensas debido a la transición $\pi\pi^*$ de los dobles enlaces conjugados de los anillos aromáticos.

En este trabajo, se emplea una solución hospitalaria con una concentración de 2 mg/mL y cuyos excipientes son: glucosa monohidrato, E331 (citrato trisódico), E330 (ácido cítrico anhidro), E507 (HCl), E524 (NaOH) y agua para preparaciones inyectables.

Con este antibiótico lo que se pretende es alcanzar durante su aplicación, en el menor tiempo posible y sin llegar a los niveles de toxicidad, la **Concentración Mínima Inhibitoria (MIC)** (apartado 1.4.2), que en el caso particular del linezolid es de $2 \text{ }\mu\text{g/mL}$ [55-58], y la **Concentración Mínima Bactericida (MBC)** (apartado 1.4.2), que es $16 \text{ }\mu\text{g/mL}$ [55-58].

2.2.1.1.6. Tornillos huecos de pared porosa

Los tornillos huecos de acero poroso 316L que se han utilizado en el experimento de liberación fueron suministrados por la firma Mott Corporation (Farmington, USA), tienen una porosidad nominal de de $0,2 \mu\text{m}$ y una porosidad volumétrica del 17 %. Tienen una longitud total $L = 27 \text{ mm}$, de la cual 25,4 mm es porosa, un diámetro exterior $\varnothing_{\text{ext}} = 6,35 \text{ mm}$, y un espesor de 1,6 mm. Uno de los extremos está cerrado mediante una soldadura y el otro queda abierto para poder cargar el material mesoporoso con el fármaco. La figura 2.15 muestran fotos de uno de los tornillos utilizados:

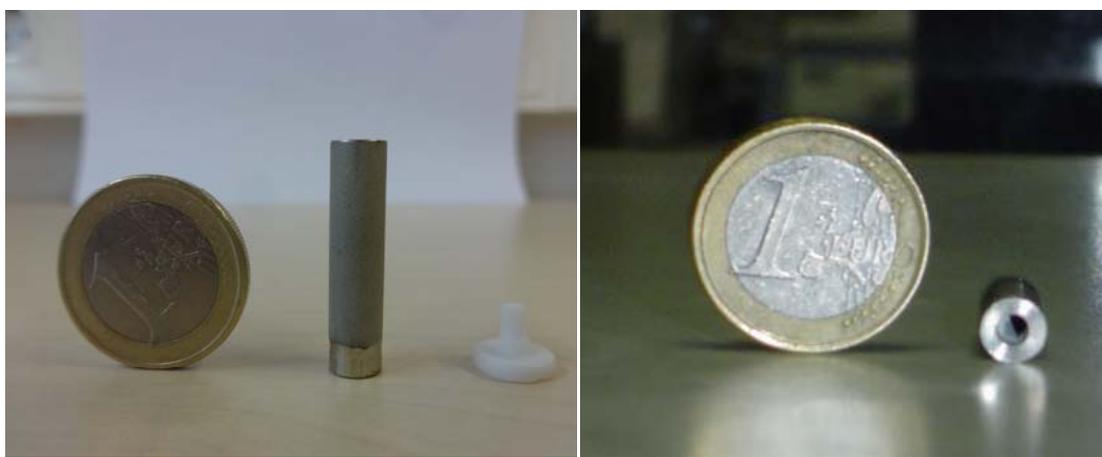


Figura 2.15.- Tornillos porosos.

2.2.1.2. Experimentación realizada

2.2.1.2.1. Ensayos mecánicos

Se han llevado a cabo una serie de ensayos mecánicos sobre el acero inoxidable poroso 316L con el que se trabaja para corroborar que no pierde propiedades mecánicas necesarias para utilizarlo en el objetivo que se plantea: una opción de prótesis implantable y liberadora de fármacos.

Para estos ensayos, se compró acero poroso de las características que se han descrito anteriormente (apartado 2.2.1.1.5), con las longitudes específicas necesarias para cada tipo de ensayo mecánico.

Se han realizado ensayos de compresión uniaxial sobre tubos de acero inoxidable poroso 316L y acero inoxidable sólido 316L para poder comparar propiedades. Para este tipo de ensayos se necesitaron tubos porosos de 9,5 mm de diámetro externo, 10 mm de longitud y un espesor de 1,6 mm. Dichos ensayos se realizaron con una máquina Instron 8032 que disponía de una célula de carga de 100 KN. Las probetas se comprimieron entre dos discos de acero de 20 mm de diámetro a una velocidad de 1 mm/s hasta un valor de deformación unitaria menor de 0,5.

Se han realizado también ensayos de flexión por tres puntos a probetas de acero inoxidable poroso de longitud 30 mm con una Instron 8032 con una célula de carga de 100 KN y una velocidad de desplazamiento de 1 mm/min hasta su fractura.

Finalmente también se realizaron ensayos de torsión en una máquina (Metaltest, España) con una célula de torsión de 100 Nm

2.2.1.2.2. Carga del fármaco en el material poroso

El proceso de la carga del fármaco consiste en:

- 1) Introducir en un tubo de centrifuga 100 mg del material poroso
- 2) Añadir 10 mL de la disolución hospitalaria de linezolid (Zyvox®) de concentración 2 mg/mL.
- 3) Esta mezcla se deja agitando en unos rodillos IKA KS 130 control durante 12-16 horas, para favorecer el contacto y que el fármaco se adsorba en los poros del material.

2.2.1.2.3. Lavado del material poroso

Después de la carga del fármaco se procede a utilizar uno de los siguientes procedimientos de lavado del polvo obtenido:

Método 1

- 1) Se filtra la mezcla de material poroso/fármaco a través de un filtro de 3-5 μm .
- 2) El líquido anterior se vuelve a filtrar, esta vez utilizando un filtro de 0,2 μm .
- 3) El líquido obtenido (sobrenadante) se mide en el espectrofotómetro para poder calcular con la recta de calibrado la cantidad de fármaco que no se ha adsorbido en el material mediante diferencia con el introducido.
- 4) El polvo retenido en el filtro se deja secar a temperatura ambiente y se recoge en un vial para su uso posterior en la carga de los tornillos.

En este caso la cantidad de fármaco adsorbido en el material poroso es:

Fármaco adsorbido (masa) = fármaco inicial (masa) – fármaco en el sobrenadante (masa)

Método 2

- 1) Centrifugar la mezcla a 10000 rpm durante 10 minutos.
- 2) Se retira el sobrenadante con una jeringuilla, intentando no quitar material.
- 3) Se añaden 5 mL de SBF y se vuelve a centrifugar a 10000 rpm durante 5 minutos.
- 4) Se vuelve a retirar el sobrenadante con una jeringuilla.
- 5) Se filtra el primer sobrenadante con un filtro de 0,2 μm y se mide la absorbancia en el espectrofotómetro.

- 6) Se filtra el segundo sobrenadante con un filtro de 0,2 μm y se mide la absorbancia en el espectrofotómetro.
- 7) El polvo retenido en el filtro se deja secar a temperatura ambiente y se recoge en un vial para su uso posterior en la carga de los tornillos.

En este caso la cantidad de fármaco adsorbido es:

Fármaco adsorbido (masa) = fármaco inicial (masa) – (fármaco en el 1º sobrenadante + fármaco en el 2º sobrenadante) (masa)

Método 3

- 1) Centrifugar la mezcla a 10000 rpm durante 10 minutos.
- 2) Se retira el sobrenadante con una jeringuilla, intentando no quitar material.
- 3) Se deposita el polvo húmedo en un filtro de 3-5 μm .
- 4) Se van añadiendo gotas de SBF hasta llegar a 10 mL.
- 5) Se filtra el líquido con un filtro de 0,2 μm .
- 6) Se mide la absorbancia en el espectrofotómetro.
- 7) El polvo retenido en el filtro se deja secar a temperatura ambiente y se recoge en un vial para su uso posterior en la carga de los tornillos.

En este caso el fármaco adsorbido es:

Fármaco adsorbido (masa) = fármaco inicial (masa) – (fármaco en el 1º sobrenadante (masa)+ fármaco en el filtrado (masa)).

2.2.1.2.4. Ensayo de liberación

Una vez que se ha secado el conjunto material poroso/fármaco se llevaron a cabo diversos experimentos. La metodología utilizada es la siguiente:

- 1) Se introducen en el programa los parámetros de medida y tiempos de toma de muestra que se desean.
- 2) Se introducen en el tornillo 37 mg aproximadamente del material poroso/fármaco y se sella el tornillo.
- 3) Se añaden 50 mL de SBF en un vaso de precipitados y se calientan a 37 °C.
- 4) Una vez alcanzada la temperatura se mide la absorbancia a tiempo 0 que nos servirá como blanco del SBF.
- 5) Se introduce el tornillo en el vaso de precipitados.
- 6) Se comienza el experimento controlando la temperatura a 37 °C y en constante agitación para mantener el sistema a temperatura homogénea y mejorar los gradientes de concentración.
- 7) Se tapa el recipiente con "*parafilm*" (plástico de parafina) para no perder volumen de SBF y que no haya variaciones de concentración.
- 8) Se va midiendo la absorbancia de la disolución a intervalos de tiempo determinados durante varios días.
- 9) Al finalizar el experimento se comprueba que no ha habido pérdida de volumen.

2.2.2. Liberación a través de membrana

2.2.2.1 Materiales utilizados

2.2.2.1.1. Fármaco

Como fármaco de estudio se sigue utilizando el linezolid (ver apartado 2.2.1.1.4), lo que se cambia ahora es la manera de ser liberado.

2.2.2.1.2. Membrana de silicalita

La silicalita es una zeolita (aluminosilicato hidratado sintético) de la familia MFI que se caracteriza por tener una estructura cristalina rígida con unos poros de ~0,55 nm [59]. Dichos poros se utilizaron para controlar la cinética de liberación del fármaco contenido en el interior del tornillo. Esta membrana se sintetizó utilizando TPAOH (1 M, Merck) como agente estructurante empleando como fuente de silicio Ludox AS-40 (40 % wt. suspensión coloidal de partículas de sílice en agua, Aldrich) a partir de un gel de síntesis de composición 1 TPAOH:19,5 SiO₂:438 H₂O, siguiendo procesos descritos en la bibliografía [59-61]. Se disuelve el Ludox AS-40 en agua Milli-Q y se agita a temperatura ambiente durante 30 minutos y a continuación se añade el TPAOH. La síntesis se lleva a cabo en autoclave durante 48 h a 185 °C. Finalmente se calcina a 480 °C durante 8 h con una rampa de calentamiento de 0,5 °C/min.

2.2.2.1.3. Tornillos huecos de acero inoxidable

A fin de establecer comparaciones con el dispositivo de tornillos huecos de pared porosa descrito en la apartado 2.2.1.1.5, se procedió a realizar pruebas de liberación de fármaco en tornillos cilíndricos huecos de acero inoxidable. Los tornillos tenían una longitud de 28 mm, un diámetro externo de 10 mm y 2,5 mm de espesor de pared, con un volumen interno de 0,5 mL, tal como se muestra en la figura 2.16. En sus paredes se mecanizó un orificio de 1 mm de diámetro sobre los que se sintetizaron las membranas de silicalita

mencionadas en el apartado anterior según el método descrito en la bibliografía [59-61].

2.2.2.2. Síntesis de la membrana en el orificio

Previo a la síntesis de la membrana, el interior de los tornillos descritos en el apartado anterior, se selló mediante un tapón largo de teflón que se introducía en él y rellenaba todo su espacio interior, además se recubrió todo el vástago del tornillo mediante cinta de teflón a excepción del agujero de 1 mm de diámetro donde se quería sintetizar la membrana.

Una vez preparado el tornillo y el gel de síntesis (apartado 2.2.2.1.2) , los tornillos se colocaron en autoclaves y se añadió la solución descrita hasta cubrirlos por completo, para poder llevar a cabo la síntesis hidrotermal durante 48 horas a 185 °C en una estufa. Éste procedimiento se llevó a cabo 4 veces, invirtiendo en cada caso la orientación de los tornillos a fin de garantizar la homogeneidad de la síntesis en todo el orificio. Finalmente, una vez sintetizadas las membranas, se procedió a calcinarlas a 480 °C durante 8 horas con una rampa de calentamiento de 0,5 °C por minuto para eliminar el agente estructurante y liberar así su estructura porosa.

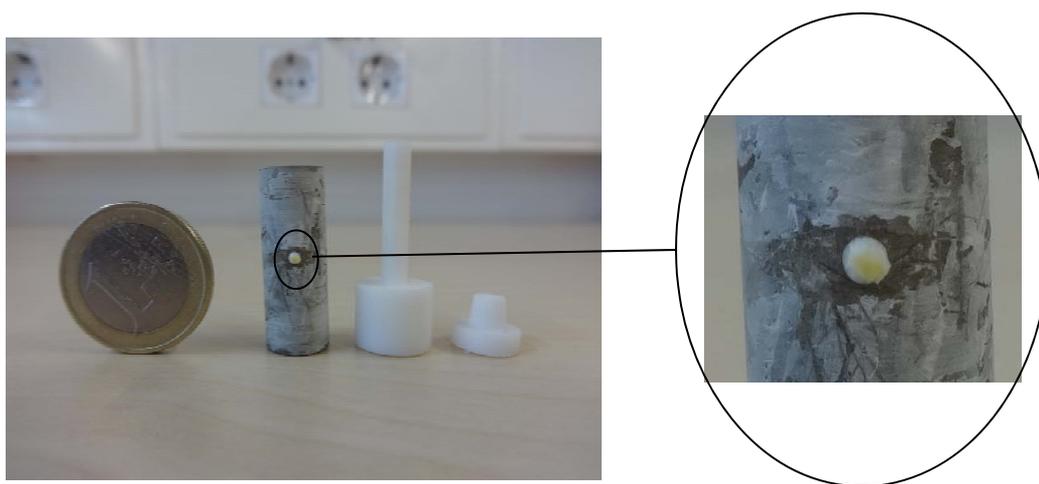


Figura 2.16.- Detalle de las membranas sintetizadas en tornillos huecos.

2.2.2.3. Ensayos de liberación

Los ensayos de liberación llevados a cabo con los tornillos sobre los cuales se ha sintetizado una membrana es prácticamente igual que para los tornillos porosos (ver apartado 2.2.1.2.4), lo que permite establecer comparaciones entre ambos dispositivos.

En éste caso, es la disolución hospitalaria de linezolid (2 mg/mL) la que se añade directamente al interior de los tornillos y se estudia la velocidad de liberación del fármaco a través del espesor de membrana.

2.2.3. Técnicas de caracterización

2.2.3.1. Espectrofotometría UV-Visible

La espectrofotometría UV-Visible es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas de forma lineal a la concentración del compuesto. Para hacer este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz adsorbida por la misma [62].

El fundamento de la espectroscopia se debe a la capacidad de las moléculas para absorber radiaciones, entre ellas las radiaciones dentro del espectro UV-Visible. Cuando la luz es absorbida por una molécula, se origina un salto desde un estado energético fundamental E_1 , a un estado mayor de energía (estado excitado) E_2 . Y sólo se absorberá la energía que permita el salto al estado excitado. Cada molécula tiene una serie de estados excitados que la distingue del resto de moléculas. Como consecuencia, la absorción que a distintas longitudes de onda que presenta una molécula (su espectro de absorción) constituye una señal de identidad de la misma [62].

Cuando un rayo de luz de una determinada longitud de onda de intensidad (I_0) incide perpendicularmente sobre una disolución de un

compuesto químico que absorbe luz o cromóforo, la intensidad de luz absorbida es la diferencia entre la radiación incidente y la transmitida a través de la muestra. La cantidad de luz absorbida se expresa como transmitancia o absorbancia [62,63].

Esta intensidad dependerá de la distancia que atraviesa la luz a través de la solución del cromóforo y de la concentración de éste. La relación entre la absorbancia y la concentración del cromóforo en la solución viene expresada por la Ley de Lambert-Beer [62,63]:

$$A = \log I/I_0 = \varepsilon \cdot C \cdot l \quad (2.7)$$

donde A es la absorbancia, I_0 e I es la intensidad de la radiación incidente e I la transmitida por la muestra de longitud l y C la concentración del cromóforo en la solución, si la concentración se expresa en molaridad (M) y la longitud en centímetros, ε , que es una constante específica de cada cromóforo, denominada coeficiente de extinción molar, tiene las unidades de $M^{-1} \cdot cm^{-1}$. Si se desconoce el peso molecular del soluto, la concentración puede expresarse en otras unidades como $g \cdot L^{-1}$, con lo que las unidades de ε serían $g^{-1} \cdot L \cdot cm^{-1}$, y en este caso, al coeficiente así expresado se conoce como coeficiente de extinción específico ε_s [62].

2.2.3.2. Instalación experimental

Para las medidas de absorbancia se ha utilizado un espectrofotómetro Agilent 8453. La fuente de radiación es una combinación de una lámpara de deuterio para el rango de longitudes de onda del Ultravioleta (UV) (desde 190 nm hasta 800 nm), una lámpara de tungsteno para el visible y onda corta para el rango de longitudes de onda del infrarrojo (SWNIR) (desde 370 nm hasta 1100 nm). Por lo tanto el rango total de longitudes de onda que se pueden medir con el espectrofotómetro es desde 190 nm hasta 1100 nm.

La radiación ultravioleta (UV) y visible, como muestra la figura 2.17, comprende sólo una pequeña parte del espectro electromagnético, que incluye otras formas de radiación como radio, infrarrojo (IR), cósmica y rayos X [63].

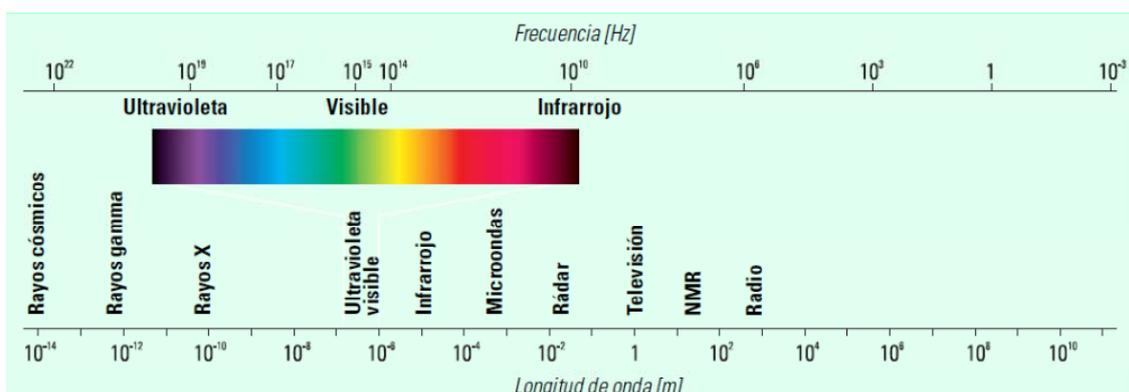


Figura 2.17.- El espectro electromagnético [63].

El espectrofotómetro tiene un compartimento para la muestra, donde se producirá la interacción entre el haz y la muestra, abierto al exterior para un acceso más fácil y cómodo al mismo. El espectrofotómetro está dotado con una palanca que ajusta el compartimento para la celda de la muestra [64]. Esta instalación (figura 2.18) está montada en los laboratorios del grupo NFP del Instituto Universitario de Investigación en Nanociencia de Aragón (INA).

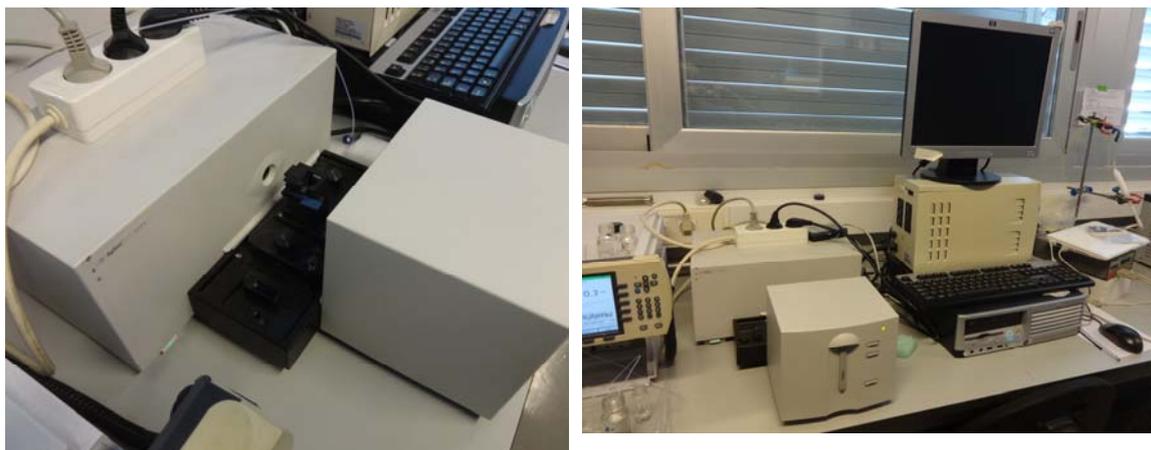


Figura 2.18.- Espectrofotómetro Agilent 8453.

Para el estudio de liberación de fármacos se añade a la instalación un vaso de precipitados de 50 mL de donde se tomará la muestra durante el tiempo que dura el experimento. Durante las medidas del experimento se mantiene constante la temperatura del SBF a 37 °C con un controlador de temperatura que consta de un termopar IKA ETS-D5 y una placa calefactora IKA RCT Basic. El experimento se mantiene en constante agitación para mantener la temperatura homogénea y mejorar los gradientes de concentración.

El ensayo de liberación de fármaco es un test que se realiza en continuo y que en ningún momento se ha de tocar ni la muestra ni la cubeta de medida. El espectrofotómetro está equipado con una bomba peristáltica que mediante un capilar es capaz de llevar la muestra desde el vaso de precipitados hasta la cubeta de medida y posteriormente, mediante otro capilar, devolver la muestra hasta el vaso de precipitados. El capilar que toma la muestra del vaso de precipitados está provisto de un filtro que impide que pueda arrastrar cualquier tipo de partícula al interior de la cubeta.

2.3. Bibliografía

- [1] J. Ryhänen, E. Niemi, W. Serlo, E. Niemelä, P. Sandvik, H. Pernu, T. Salo, J. Biomed. Mater. Res. 35 (1997) 451.
- [2] X.J. Yan, D.Z. Yang, X.P. Liu, Materials Characterization 58 (2007) 623.
- [3] C. Trepanier, A.R. Pelton. CORDIS-NCD
- [4] M. Anke, B. Groppel, H. Kronemann, M. Grun, International Agency for research on Cancer (1984) 339.
- [5] D.F. Williams, CRC Press, CRC Series in Biocompatibility, II (1981) 45.
- [6] M. Arruebo, WIREs Nanomed Nanobiotechnol 2012, 4:16–30. doi: 10.1002/wnan.132
- [7] Hudson SP, Padera RF, Langer R, Kohane DS, Biomaterials 29 (2008) 4045.
- [8] Katherine C. Chen. “Proceedings of the 2003 American Society for Engineering Education Annual Conference & Exposition Copyright © 2003, American Society for Engineering Education”.
- [9] F. Díaz del Castillo, Nitinol, un biomaterial con memoria de forma. Cuautitlán Izcalli, 2011.
- [10] S. de la Flor López, Simulación numérica y correlación experimental de las propiedades mecánicas en las aleaciones con memoria de forma (2005). (<http://www.tdx.cat/>)
- [11] M. Arruebo, M. Galan, N. Navascues, C. Tellez, C. Marquina, M.R. Ibarra, J. Santamaria, Chem. Mater. 18 (2006) 1911.
- [12] M. Vallet-Regi, A. Ramila, R.P. del Real, J. Perez-Pariente, Chem. Mater. 13 (2001) 308.
- [13] S. Liu, O. Collart, P. Cool, P. Van Der Voort, E.F. Vansant, J.Minhua, O.I. Lebedev, G. Van Tendeloo, J. Phys. Chem. B 107 (2003) 10405.
- [14] S.M. Sprague, N.S.K. Krieger, D.A. Bushinsky, Am. J. Physiol. 264 (1993) F882.
- [15] N.C. Blumenthal, A.S. Posner, Calcified Tissue Int. 36 (1984) 439.

- [16] A.W. Hassel, Min. Invas. & Allied Technol. 2004: 13(4) 240.
- [17] S. A. Shabalovskaya, Acta biomaterialia. 4 (2008) 447.
- [18] T. Dueig, A. Pelton, D. Stöckel, Materials Science and Engineering A273-275 (1999) 149.
- [19] B. O'Brien, W.M. Carroll, M.J. Kelly, Biomaterials 23 (2002) 1739.
- [20] J. Pino, Tesis doctoral "Estudio nanométrico de biocompatibilidad y adhesividad celular a biomateriales utilizados en cirugía ortopédica". (2008) 10-12.
- [21] S.A. Shabalovskaya, Bio-Med. Mater. Eng. 12 (2002) 69.
- [22] B. O'Brien, W.M. Carroll, M.J. Kelly, Biomaterials 23 (2002) 1739.
- [23] Y.W. Gu, B.Y. Tay, C.S. Lim, M.S. Yong, Biomaterials 26 (2005) 6916.
- [24] S.A. Shabalovskaya, J. Phys. IV 5 (1995) 1199.
- [25] S. Trigwell, R.D. Hayden, K.F. Nelson, G. Selvaduray, Surf. Interface Anal. 26 (1998) 483.
- [26] P. Jiang, J.F. Bertone, K.S. Hwang, V.L. Colvin, Chem. Mater. 11 (1999) 2132.
- [27] S.J. Norris, E.G. Arlinghaus, L. Meng, R. Heiny, L.E. Scriven, Adv Mater. 16 (2004) 1393.
- [28] K. Ha, Y.J. Lee, D.Y. Jung, J.H. Lee, K.B. Yoon, Adv. Mater. 12 (2000) 1614.
- [29] Y. M. Kim, J. H. Chang, I. J. Kim, Journal of Ceramic Processing Research. 10 (2009) 453.
- [30] J.S. Lee, K. Ha, Y.J. Lee, K.B. Yoon, Adv. Mater. 17 (2005) 837.
- [31] <http://sstti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-de-microscopia/microscopia-electronica-de-barrido.html>
- [32] <http://sai.unizar.es/microscop-mat/dotacion.html>
- [33] [http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/celular/microelectran s.htm](http://www.javeriana.edu.co/Facultades/Ciencias/neurobioquimica/libros/celular/microelectran%20s.htm)

- [34] <http://sstti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-de-rayos-x/espectroscopia-fotoelectronica-de-rayos-x.html>
- [35] <http://sstti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-de-rayos-x/difraccion-de-rayos-x.html>
- [36] M.T. Khorasani, S. M. Bellah, H. Mirzadeh, B. Sadatnia, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 51 (2006) 112.
- [37] <http://www.unizar.es/icma/>
- [38] <http://www.telstar-instrumat.com/es/productos/metrologia+de+superficies.htm>
- [39] <http://sstti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-de-analisis/>
- [40] T. Kokubo , H. Kushitani, S. Sakka, T. Kitsugi, T. Yamamuro, J. Biomed. Mater. Res. 24 (1990) 721.
- [41] <http://sstti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-de-analisis-termico/>
- [42] S. Brunauer, P. H. Emmett, E. Teller, Journal of the American Chemical Society 60 (1938) 309.
- [43] J.M. Smith, Ingeniería de la cinética química. 1991, Mexico: 6th Ed. McGraw-Hill.
- [44] K. S. W. Sing, D. H. Everett, R. Haul, L. Moscou, R. A. Pierotti, J. Rouquerol, T. Siemieniewska, Pure & Appl. Chem. 57 (1982) 603.
- [45] J. García Martínez, J. Pérez Pariente, Materiales zeolíticos: síntesis, propiedades y aplicaciones (2003).
- [46] http://www.upv.es/materiales/Fcm/Fcm12/pfcm12_3_2.html
- [47] X.L. Zhang, Zh.H. Jiang, Zh.P. Yao, Y. Song, Zh.D. Wu. Corrosion Science 51 (2009) 581.
- [48] http://ocw.uc3m.es/ciencia-e-oin/tecnologia-de-materiales-industriales/bloque-iii/Tema-7-Ensayos_mecanicos.pdf
- [49] D. Kumar, K. Schumacher, C. du Fresne von Hohenesche, M. Grün, K.K. Unger, Colloids and Surfaces A: Physicochemical Engineering Aspects 187-188 (2001) 109.

- [50] O. I. Lebedev , G. Van Tendeloo, O. Collart, P. Cool, E. F. Vansant, *Solid State Sciences* 6 (2004) 489.
- [51] C. Yu, J. Fan, B. Tian and D. Zhao, *Chemical Materials* 16 (2004) 889.
- [52] S.M. Swaney, H. Aoki, M.C. Ganoza, D.L. Shinabarger, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 42 (1998) 3251.
- [53] S.J. Brickner, M.R. Barbachyn, D.K. Hutchinson, P.R. Manninen, *Journal of medicinal chemistry* 51 (2008) 1981.
- [54] <http://www.chemspider.com/>
- [55] H. Onda, F.M.E. Wagenlehner, N. Lehn, K.G. Naber, K.G., *Int. J. Antimicrob. Agents* 18 (2001) 263.
- [56] A. Giacometti, O. Cirioni, R. Ghiselli, F. Orlando, F. Mocchegiani, C. Silvestri, A. Licci, M. De Fusco, M. Provinciali, V. Saba, G. Scalise, *Antimicrob. Agents Chemother.* 49 (2005) 4042.
- [57] M.K.L. LaPlante, S.N. Leonard, D.R. Andes, W.A. Craig, M.J. Rybak, *Antimicrob. Agents Chemother.* 52 (2008) 2156.
- [58] L.M. Pérez, P. Lalueza, M. Monzón, J.A. Puértolas, M. Arruebo, J. Santamaría, *International Journal of Pharmaceutics* 409 (2011) 1.
- [59] M. Arruebo, J. L. Falconer, R. D. Noble, *Journal of Membrane Science* 269 (2006) 171.
- [60] V. A. Tuan, J. L. Falconer, R. D. Noble, *Microporous and Mesoporous Materials* 41 (2000) 269.
- [61] R. Krishna, S. Li, J. M. Van Baten, J. L. Falconer, R. D. Noble, *Separation and Purification Technology* 60 (2008) 230.
- [62] N. Abril, J.A. Bárcena, E. Fernández, A. Galván, J. Jorrín, J. Peinado, F. Toribio, I. Túnez, *Espectrofotometría: Espectro de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas.* (<http://www.slideshare.net>).
- [63] T. Owen, *Fundamentos de la espectroscopia UV-visible moderna* (2000).
- [64] Agilent 8453 UV-visible Spectroscopy System Operator's Manual.

3. ASPECTOS DE LA BIOCOMPATIBILIDAD DEL SUSTRATO

Además de la fortaleza del enlace entre el material silíceo y el sustrato de Nitinol, la biocompatibilidad es un requisito imprescindible en este trabajo. La definición oficial de biocompatibilidad, consensuada en la Conferencia de Chester de la European Society for Biomaterials de 1987, expone que la biocompatibilidad es la capacidad de un material de ser utilizado en una aplicación específica, con una respuesta adecuada del tejido receptor [1, 2].

Para ver si un material es biocompatible se recurre a la ISO 10993-1, en la que se detallan una serie de ensayos que debe pasar el material para ser considerado biocompatible, se centran en ver, los daños irreversibles en los tejidos y el cuerpo en general, producidos por una muestra de material ensayado. Haciendo referencia a la posible genotoxicidad, carcinogenicidad, toxicidad sobre el feto en gestación, citotoxicidad, alergias, sensibilización al mismo y efectos de los residuos procedentes de la esterilización. Pero no evalúa la respuesta del material, con la forma del implante en la zona de implantación, para la función que ha de desempeñar [2].

De forma práctica un cirujano considera que un material es biocompatible sí, después de aproximadamente un mes de implantación, queda envuelto en una capa de tejido fino, blando (fibroso o cartilaginoso) avascular y si esta reacción es poco agresiva. De acuerdo con esta propiedad, se intentará buscar una aplicación terapéutica adecuada para el material. [2,3]

El término "rendimiento biológico" que sustituye a la idea clásica de biocompatibilidad se define como la interacción entre los materiales y los sistemas vivos. Los dos aspectos de este rendimiento son [4]:

- La respuesta del huésped: es toda aquella respuesta local y sistémica de los sistemas vivos hacia el material que no sea la pretendida terapéuticamente.

- La respuesta del material: la respuesta del material hacia el sistema vivo.

Para evaluar este rendimiento biológico, se han desarrollado una serie de ensayos que se denominan "ensayos *In Vitro*", "ensayos *In Vivo*" y finalmente "ensayos clínicos" [4].

Los ensayos *In Vitro* se pueden dividir en dos clases generales, los métodos de cultivo de tejido y los métodos de contacto con sangre.

Los métodos de cultivo de tejido se utilizan para estudiar aspectos de la respuesta del huésped tales como [4]:

- Supervivencia celular: toxicidad e integridad de la membrana.
- Reproducción celular: inhibición del crecimiento.
- Actividad metabólica: energética, la síntesis y el catabolismo.
- Actividad efectiva: inhibición del movimiento, quimiotaxis y fagocitosis; alteración de la forma y tamaño de la célula.
- Daño celular: aberración cromosómica, mutaciones y formación de tumores.

Los métodos de contacto con sangre son normalmente utilizados para dispositivos cardiovasculares y determinan tiempos de coagulación, velocidad de desintegración de glóbulos rojos (hemólisis) tanto en sistemas dinámicos como estáticos, durante o después del contacto con los distintos materiales [4].

Los ensayos *In Vivo* se llevan a cabo en distintos animales, una vez obtenidos los resultados *In Vitro* y antes de llevar a cabo los ensayos en humanos. Se dividen en dos grupos, no funcionales y funcionales. En los no funcionales el implante tiene una forma arbitraria o en una forma similar a la requerida para los ensayos mecánicos posteriores y se implantan en el sitio del tejido elegido. Con la excepción de los materiales utilizados para el sistema

cardiovascular, para los ensayos no funcionales, se elige, generalmente, el tejido blando, porque conlleva una cirugía relativamente más fácil. Para las aplicaciones de reemplazamiento de articulaciones y fijaciones de fracturas se suele elegir el hueso cortical. Estos ensayos determinan la alergenicidad, inflamación crónica o formación de tumores. En los funcionales, además de ser implantados, se coloca el material, al menos en cierto grado, en el modo funcional que se experimentaría en el cuerpo humano. Se necesita para estudiar crecimiento dentro de materiales porosos para fijación, formación de neointima en procesos vasculares y la producción de partículas de desgaste en dispositivos de carga y descarga, así como la posible respuesta del tejido a ellas [4].

Finalmente, los ensayos clínicos, se realizan en humanos. Los ensayos clínicos de materiales para implante tienen que estar basados en diferentes diseños experimentales. Se debe comparar entre [4]:

- condiciones de pacientes antes y después de realizar el implante. Esto es útil para detectar cambios que pueden tener lugar en un individuo con la enfermedad subyacente (para el que el implante está indicado) que puede estar asociado a una respuesta al material del implante.
- pacientes con implantes similares pero hechos de diferentes materiales. Es útil para investigar diferencias entre los materiales y en la respuesta del paciente.
- pacientes con el implante y pacientes sanos de las mismas características (edad, sexo y entorno laboral y social). Útil para detectar efectos crónicos sutiles como resultado a la exposición al material.

Un estudio completo de la biocompatibilidad de un material según la Norma ISO 10993 requeriría de ensayos biológicos y de ensayos de

caracterización que se compatibilizarían, tales como los que se presentan en la tabla 3.1 [5].

Tabla 3.1.- Ensayos según Norma ISO10993 necesarios para los materiales biocompatibles [5]

Ensayos biológicos	Ensayos de caracterización
Citotoxicidad (ISO 10993-5)	Caracterización química, físico-mecánica y topológica (ISO 10993-18, 19)
Sensibilización (ISO 10993-10)	Identificación y cuantificación de los productos de degradación de productos sanitarios poliméricos, cerámicos y metálicos (ISO 10993 – 9, 13, 14, 15)
Irritación en piel, ojos, mucosas (ISO 10993-10)	Determinación de residuos de óxido de etileno (ISO 10993-7)
Reactividad intracutánea (ISO 10993-10)	
Toxicidad sistémica aguda, subaguda, subcrónica, crónica (ISO 10993-11)	
Genotoxicidad (in vitro e in vivo) (ISO 10993-3)	
Efectos de la implantación en distintos tejidos (locales y sistémicos) (ISO 10993-6)	
Hemocompatibilidad (ISO 10993-4)	

En el presente trabajo sólo se centrará en los ensayos de caracterización que corresponderían con ensayos dentro de la norma ISO (10993-18,19):

- Química: estudiando la composición de la superficie del Nitinol y el espesor de la capa de TiO₂.
- Físico-mecánica: estudiando la respuesta a los ensayos de corrosión y de flexión una vez pre-tratado el material o recubierto con los distintos materiales mesoporosos y zeolíticos.

- Topológica: estudiando la rugosidad final del material pre-tratado y recubierto. Dicha rugosidad es importante para la aplicación final de material.
- Se cuantificará los productos de degradación en la corrosión: estudiando en especial la lixiviación del níquel.

3.1. Estudio del sustrato

En este capítulo se pretende estudiar tanto el material sobre el que no se ha realizado ningún tratamiento, que recibe el nombre de “material recibido”, como todos aquellos en los que se han realizado algún tipo de pretratamiento. Se pretende determinar cuál de todos ellos consigue alcanzar un mayor espesor de capa de TiO_2 , aspecto que se relaciona con propiedades de biocompatibilidad como la resistencia a la corrosión en un medio determinado y la tendencia de la aleación a lixiviar iones potencialmente tóxicos [6]. Esta capa de TiO_2 actúa como una capa pasiva que incrementa la estabilidad de la superficie protegiendo el núcleo del material frente a la corrosión y crea una barrera física y química frente a la oxidación y lixiviación del níquel [6-9]. Además la capa pasiva se considera electroquímicamente estable, se considera inactiva para las células y tiene muy poca influencia en la proliferación celular [9]. Por otra parte, es necesario evaluar también si el carácter superelástico del Nitinol se ve influenciado por los tratamientos recibidos.

A continuación se estudiará el método de recubrimiento más adecuado para obtener una capa homogénea de material tanto mesoporoso como zeolítico que pueda actuar como depósito para el almacenamiento de fármacos.

3.1.1. Difracción de rayos X (XRD)

Un estudio previo de difracción de rayos X (XRD) muestra que la estructura del núcleo del material recibido de Nitinol corresponde principalmente a una fase cúbica (austenítica) con pequeña contribución de fase martensítica (apartado 1.2.1) con una orientación preferencial (1 1 0).

No se detectaron otros picos de difracción correspondientes a planos cristalinos de los compuestos Ni_3Ti , Ni_4Ti_3 , Ti_2Ni , $\text{Ti}_4\text{Ni}_2\text{O}$, TiO_2 , y NiC_x del núcleo (ver figura 3.1).

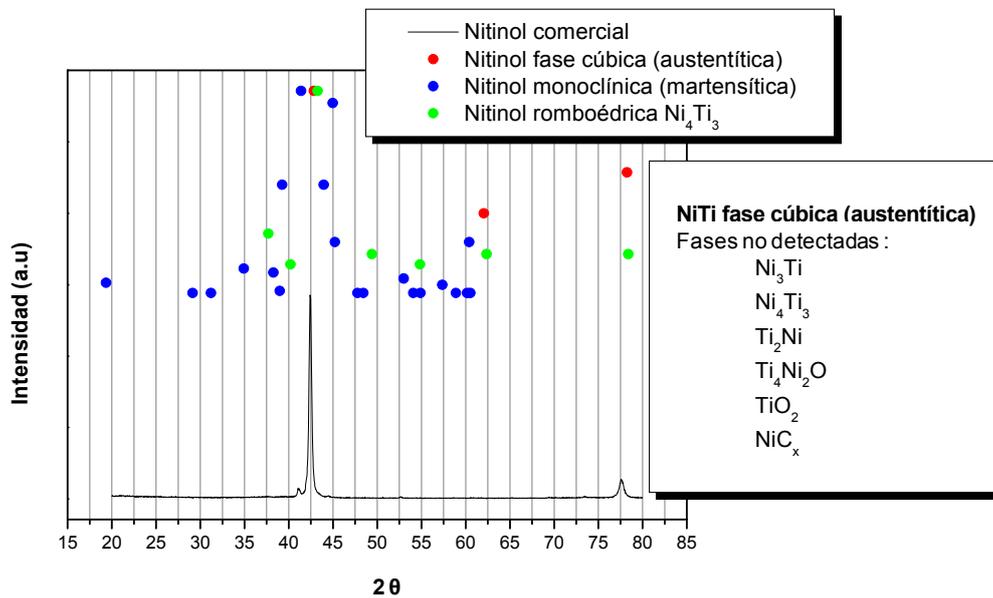


Figura 3.1.- XRD del material recibido. Se compara con otras fases cristalinas.

3.1.2. Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS)

3.1.2.1. Material recibido (MR)

Según el fabricante el material recibido (MR) está libre de óxidos, aunque los análisis de espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS) revelaron la presencia de TiO_2 en la superficie externa. El espectro de XPS de la superficie del MR y el perfil de composición en profundidad obtenido se muestran en las figuras 3.2 y 3.3 respectivamente.

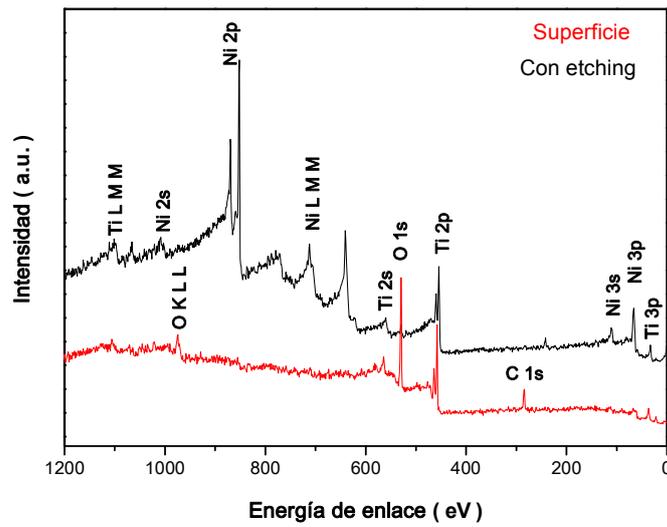


Figura 3.2.- Espectro de XPS de la superficie de material recibido.

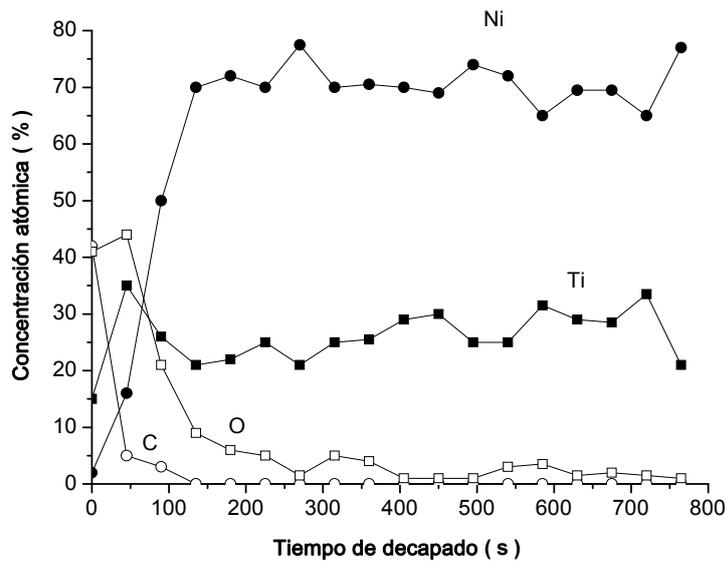


Figura 3.3.- Perfil en profundidad de un lámina de material recibido.

Los análisis de XPS y espectroscopia dispersiva de rayos-X (EDX) muestran que la superficie del material recibido es rica en Ti aunque el Ni también está presente. Después del baño de ultrasonidos indicado en el capítulo anterior (apartado 2.1.2) se continúa detectando Ni, Ti, Cu, O, C, N, Zn, Ca como se indica en la tabla 3.2.

Para determinar si todos esos elementos son impurezas superficiales, se realizó un decapado mediante un bombardeo con iones Ar en el mismo equipo. Después de realizar el decapado hasta alcanzar una profundidad de 20,8 nm, el Ca dejó de detectarse, lo que implica que el Ca sólo está presente en la superficie y que puede provenir del agua de lavado.

Sin embargo el Cu, N y Zn todavía se detectan, lo que significan que dichos elementos son estructurales. Incluso aunque la concentración del C atómico disminuye con el decapado de un 45% at. a un 17% at. esta persistencia indica que el C también es un componente estructural.

La composición química de la superficie de los sustratos de Nitinol sin tratamiento previo observada por XPS muestra una dispersión considerable en términos de relación Ni/Ti variando entre 0,07 a 0,25. Esta heterogeneidad persiste incluso después de haber realizado algunos de los tratamientos sobre el sustrato (oxidación química, tratamiento hidrotermal, etc.), como se indica en la tabla 3.6.

Para estimar el espesor de la capa de TiO_2 en la superficie de Nitinol, se utiliza el procedimiento seguido por otros autores [10] y se estima que desaparece cuando el contenido de O atómico decae hasta la mitad de su valor en superficie. Como una estimación alternativa, también se ha usado la profundidad a la cual la rampa del perfil de Ni/Ti cambia abruptamente. Ambas estimaciones se presentan en la tabla 3.2, donde el espesor ha sido calculado usando un valor aproximado de velocidad de decapado de $3,75 \text{ nm}\cdot\text{min}^{-1}$ mediante el bombardeo con iones Ar.

Del contenido en O de los resultados de XPS se ha determinado un espesor de la capa de TiO_2 de al menos $8 \pm 5 \text{ nm}$, aunque después del decapado detecta también Ti^{4+} , además de Ti^{3+} y Ti^{2+} que también aparecen. Desde el punto de vista de la relación Ni/Ti se obtiene un resultado parecido de $6 \pm 3 \text{ nm}$, como se indica en la tabla 3.2.

Tabla 3.2.- Resultados XPS para el material sin tratamiento

Material	Resultados de XPS				
	Elementos detectados	Relación atómica superficial (Ni/Ti) _s	Estados de oxidación	Espesor de capa de TiO ₂ (nm)	
				Contenido en O	Relación Ni/Ti
MR	Ni, Ti, Cu, O, C, N, Zn, Ca	0,07 ~ 0,25	TiO ₂ , Ni ₂ O ₃ , NiO	8 ± 5	6 ± 3
MR decapado	Ni, Ti, Cu, O, C, N, Zn	1,21	Ti ²⁺ , Ti ³⁺ , Ti ⁴⁺ , Ni ₂ O ₃	-	-

En el material recibido el pico del Ti 2p_{3/2} sólo tiene un componente a 459,2 eV que corresponde al Ti⁴⁺ y que se le asigna al TiO₂ [7,11]. Por otro lado Ni 2p presenta su principal componente a 856,2 eV que corresponde al enlace Ni-O (Ni³⁺) [12] y una contribución pequeña (0,1% de área) a 853,6 eV que puede ser asociado al NiO o al Ni en estado intermetálico NiTi [13], aunque la ausencia de pico a 454,5 eV en el espectro del Ti 2p que correspondería al compuesto NiTi, indica que en la superficie del metal está presente el NiO.

Después del decapado aparece el pico Ti 2p_{3/2} que puede ser atribuido a tres estados de oxidación distintos, uno de ellos a 456,2 eV (Ti²⁺), otro a 457,4 eV (Ti³⁺) y el último a 459,2 eV (Ti⁴⁺) [14], también hay un aumento de la concentración del Ni atómico (ver tabla 3.2) cuyo pico Ni 2p_{3/2} sólo tiene una componente a 856,2 eV correspondiente al Ni₂O₃ [7,15].

Según se puede observar en la figura 3.4, el Ti y el Ni están distribuidos homogéneamente desde un punto de vista macroscópico.

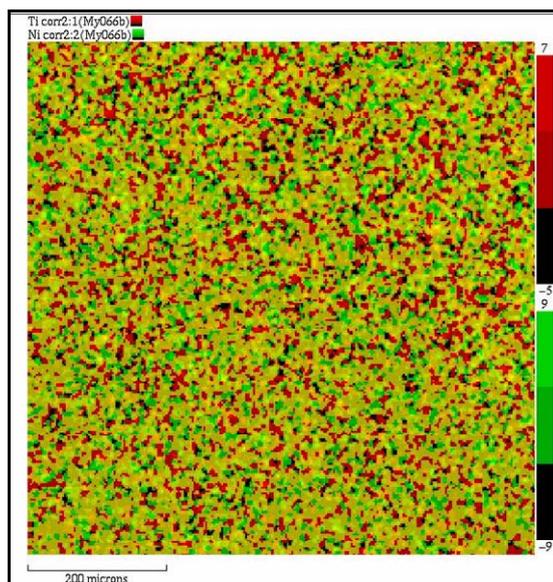


Figura 3.4.- Mapa elemental obtenido mediante XPS mostrando la distribución atómica del titanio (rojo) y del níquel (verde).

3.1.2.2. Pre-tratamiento por HNO_3 (oxidación química)

Los resultados de XPS de las láminas tratadas por oxidación química (OQ) muestran una relación Ni/Ti de 0,38 lo que puede indicar dos opciones, la primera sería un ligero incremento en la concentración de Ni en la superficie o la segunda, una disminución de la concentración del Ti tras ser sometidas las muestras a este pre-tratamiento. La señal a 458,6 eV se le asigna al Ti^{4+} , pero el pico pequeño a 454,1 eV puede corresponder al Ti metálico [16,17] o al estado de NiTi intermetálico [13]. El Ni en la superficie es principalmente Ni metálico que se asocia al pico a 852,6 eV pero también hay un pico a 853,6 eV que se le puede asignar tanto al NiO [14] o al Ni en el NiTi [13,17]. La presencia de los picos a 454,1 y 853,6 eV indicaría que en este caso el estado intermetálico está presente en la superficie (tabla 3.3).

Según los resultados de XPS la capa de TiO_2 tiene un espesor de al menos 16 ± 2 nm según el punto de vista del contenido en O. Desde el punto de vista de la relación Ni/Ti se obtiene un resultado parecido de 18 ± 4 nm (tabla 3.3). Este aumento en la capa de TiO_2 concuerda con los resultados obtenidos por Chen y cols. [18] que encontraron que tras un tratamiento con una disolución del 32,5 % de HNO_3 a 60 °C la superficie estaba formada

principalmente por TiO_2 y TiO y que se observan estructuras cóncavas fruto del ataque químico.

Tras el pre-tratamiento de oxidación química al que fueron sometidas parte de las láminas de Nitinol (apartado 2.1.2.2.), se retiraron las disoluciones obtenidas y fueron sometidas a un análisis químico por espectroscopia de emisión atómica en plasma (ICP). Los resultados muestran un mayor ataque sobre el Ni 2,30 mg/L frente a una concentración de Ti de 0,88 mg/L. La superficie de ataque fue de $9 \cdot 10^{-5} \text{ m}^2$ y el volumen de disolución ácida de 40 mL. A la vista de estos resultados, de las dos opciones señaladas en este apartado, es el aumento de la concentración de Ni la que cobra más sentido. Según los resultados, se produce la migración del Ni desde el interior de la estructura a la superficie y posterior lixiviación al medio. Estos resultados concuerdan con los que presenta O'Brien y cols. [7] quien habla de trazas de Ni después de un ataque ácido sobre alambres de Nitinol. Después de la pasivación O'Brien y cols. observan que se reduce la lixiviación de Ni debido a la capa externa de TiO_2 que se ha formado y que podría dar beneficios en términos de biocompatibilidad.

3.1.2.3. Pre-tratamiento por calcinación

Tras el pre-tratamiento de calcinación al que fueron sometidas las láminas de Nitinol (véase apartado 2.1.2.3), los resultados de XPS revelan que además de Ni, Ti y O hay una cantidad significativa de C y pequeñas cantidades de N, Zn y Ca (menos del 1% atómico). El pico de Ti $2p_{3/2}$ a 458,6 eV indicaría que el Ti está presente en la forma de TiO_2 , mientras que el Ni $2p_{3/2}$ a 856,2 eV estaría asignado al Ni_2O_3 tal como se ha comentado. El espectro de XPS también indica un dramático incremento en la concentración atómica del Ni en la superficie externa, alcanzando una relación de Ni/Ti de 1,66 (tabla 3.3). Este aumento del Ni en la superficie concuerda con el trabajo de O'Brien y cols. [7] en el que la capa superficial está compuesta principalmente por TiO_2 y Ni_2O_3 .

Tabla 3.3.- Resultados XPS para los pre-tratamientos de OQ, Calcinación (C) y TH

Condiciones experimentales		Resultados de XPS				
		Elementos detectados	Relación atómica superficial (Ni/Ti) _s	Estados de oxidación	Espesor de capa de TiO ₂ (nm)	
					Contenido en O	Relación Ni/Ti
OQ	HNO ₃ (20 %w) 20 min 80 °C	Ni, Ti, O, C, N, Ca, Si	0,09~0,36	TiO ₂ , Ni ₂ O ₃ NiTi/NiO, Ni ⁰	16 ± 2	18 ± 4
C	600 °C 8 h	Ni, Ti, Cu, O, C, N, Zn, Ca, K	1,66	TiO ₂ Ni ₂ O ₃	-----	-----
TH	100 °C 30 min	Ni, Ti, O, C, N, Zn, Ca, Cu	0,08~0,18	Ni ⁰ , NiTi/NiO, TiO ₂ , Ni ₂ O ₃	20 ± 10	14 ± 8

En el caso de los sustratos a los que se les realizó el pretratamiento de calcinación no se midió el espesor de la capa de TiO₂ porque aunque ésta fuera igual a la obtenida por Vojtech y cols. alrededor de 140 nm para alambres de Nitinol (50,9 at.% Ni y A_f de 24 °C) tras un tratamiento térmico en aire a 530 °C durante 10 minutos [19], o en torno a 850 nm en discos de Ø= 15 mm y espesor = 2 mm tras un tratamiento en aire a 600 °C durante 1 h [20], nuestro material, tras 8 horas de tratamiento, perdía las propiedades superelásticas como se verá más adelante, (apartado 3.1.5.2.), propiedad del material que bajo ninguna circunstancia se quería perder. Esta propiedad hace que sea un biomaterial ideal en cirugía ortopédica, ortodoncia y fundamentalmente en aplicaciones cardiovasculares [21-23].

3.1.2.4. Pre-tratamiento hidrotermal

Una vez realizado el tratamiento hidrotermal (véase apartado 2.1.2.4.) las láminas fueron estudiadas mediante XPS y los resultados fueron los siguientes:

La señal principal del espectro de Ti 2p es la del pico del TiO₂ (458,6 eV) y una señal de pico menor a 454,3 eV. El Ni 2p muestra un pico a 856,2 eV asociado al Ni₂O₃ y uno muy pequeño a 852,6 eV. El NiTi intermetálico también podría estar presente. La relación Ni/Ti no cambia

prácticamente comparada con el caso del material recibido, comprendida entre 0,08 y 0,24 [24,25].

Según los resultados de XPS se puede determinar que de acuerdo al contenido en oxígeno, la capa de TiO₂ tiene un espesor de al menos 20 ± 10 nm. Desde el punto de vista de la relación Ni/Ti se obtiene un resultado parecido de 14 ± 8 nm como se muestra en la tabla 3.3.

El espesor de la capa ha aumentado y está formado fundamentalmente por TiO₂, aunque también se encuentran óxidos de níquel en la superficie más externa. Es posible que éste método al igual que el pre-tratamiento con disolución de H₂O₂ a 100 °C [23] provoque un crecimiento de la capa de TiO₂ hacia el interior del material, lixiviando Ni hacia el exterior mientras que el O difunde hacia el interior lo que provoca una capa de TiO₂ más estable. Este movimiento está generado por el gran volumen de celda unidad que ocupa el TiO₂ (0,062 nm³ para el rutilo) frente al sustrato austenítico NiTi (0,027 nm³), que hace que estructura del TiO₂ se acomode con la migración del O hacia el sustrato de NiTi mientras que los átomos de Ni difunden a la superficie [26]. De esta manera, la parte inmediatamente por debajo de la capa más externa sería de TiO₂ prácticamente libre de Ni, mientras que en la más externa existirían óxidos de níquel. Esta presencia de óxidos de níquel podrían aportar al material una resistencia a la corrosión a pH= 7,4. Se observa que para Ni puro a pH= 7,5 se forma espontáneamente una capa pasiva formada por óxidos de Ni (Ni²⁺ y Ni³⁺) que protege el material [20].

3.1.2.5. Pre-tratamiento de pulido mecánico (PM)

3.1.2.5.1. PM acabado con polvo de alúmina (PA)

En las láminas cuyo pulido se llevó a cabo con dispersión de polvo de alúmina, los resultados de XPS muestran átomos de Al y Na en la superficie, seguramente procedentes de la dispersión que se utilizó durante el pulido, (ver apartado 2.1.2.5). Los resultados de XPS también indican que después del pulido, la concentración de Ni en la superficie se incrementa hasta una relación de Ni/Ti de 0,25 ~ 0,45. Aparecen los picos del Ni metálico a 852,6 eV y TiO₂ a

459,0 eV. También aparecen picos del Ni 2p a 853,6 y para el Ti 2p a 454,1 eV que podrían asociarse al estado intermetálico del NiTi, (ver tabla 3.4).

3.1.2.5.2. PM acabado con polvo de diamante (PD)

Las láminas cuyo pulido se llevó a cabo con dispersión de polvo de diamante muestran una relación de Ni/Ti en la superficie siempre en el rango de 0,2 ~ 0,3. La figura 3.5 muestra un espectro general típico de XPS después del pulido a diamante. Ti, O, Ni y C son los elementos dominantes presentes en la superficie, (ver tabla 3.4).

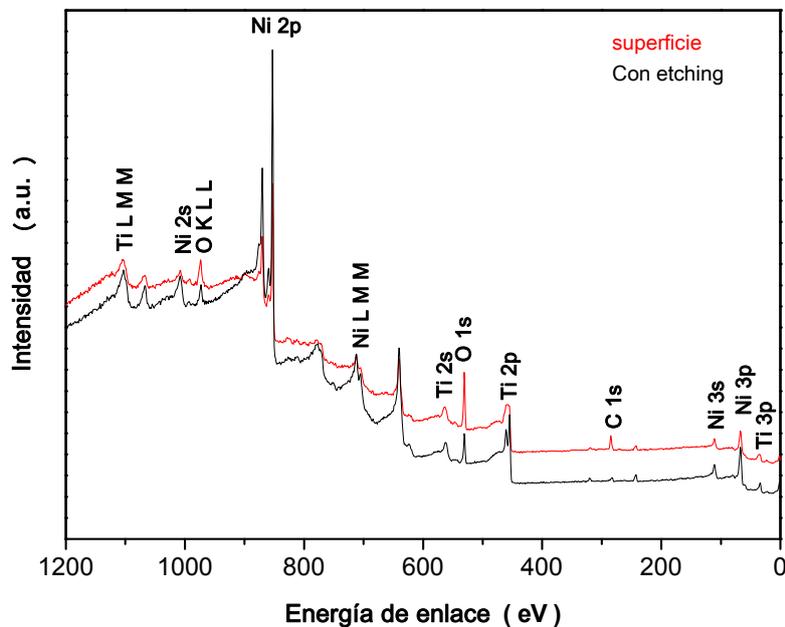


Figura 3.5.- Espectro de XPS de la superficie del Nitinol pulido a diamante.

En la superficie de un sustrato inmediatamente después del pulido con polvo de diamante o polvo de alúmina (para evitar la formación espontánea de la capa de TiO_2), el análisis de la región del espectro del Ti 2p indica principalmente la presencia de TiO_2 con una señal $2p_{3/2}$ a 459,0 eV aunque también se detectaron varios subóxidos de titanio. Un pequeño pico a 454,1 eV se atribuye a la presencia de NiTi intermetálico.

La región del espectro del Ni 2p_{3/2} tiene un pico principal a 852,6 eV asignado al níquel metálico y un pico más pequeño a 853,6 eV que puede ser relacionado con la presencia del compuesto de NiTi intermetálico [13].

Para aumentar la sensibilidad de la técnica y poder analizar exclusivamente los primeros nanómetros de la superficie, se realizaron ensayos de XPS variando el ángulo de incidencia. A medida que el ángulo con respecto a la perpendicular aumenta, la profundidad alcanzada es menor y los resultados obtenidos por XPS son de una zona más superficial. En la figura 3.6 se muestra la tendencia del pico del Ni 2p conforme se varía el ángulo de emisión. Se puede observar que los picos correspondientes al Ni decrecen conforme se aumenta el ángulo de medida y que a 60° es ya indetectable (la relación atómica Ni/Ti decrece desde 0,29 para $\theta = 0^\circ$ a 0 para $\theta = 60^\circ$). Esto significa que la cantidad de Ni en la capa más externa está por debajo de los valores detectables por XPS (≤ 1 at. %) [27].

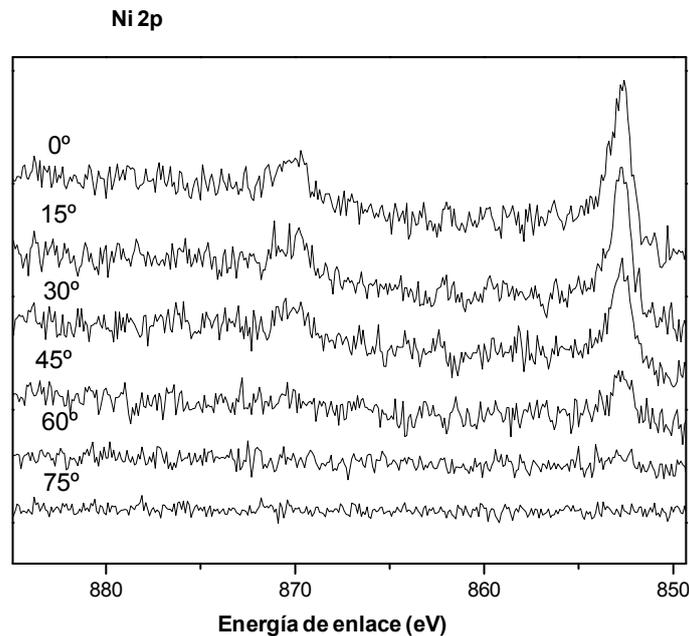


Figura 3.6.- XPS resuelto en ángulo para los sustratos pulidos a diamante.

Tabla 3.4.- Resultados XPS para el pre-tratamiento de pulido

Condiciones experimentales		Resultados de XPS				
		Elementos detectados	Relación atómica superficial (Ni/Ti) _s	Estados de oxidación	Espesor de capa de TiO ₂ (nm)	
					Contenido en O	Relación Ni/Ti
Pulido Alúmina (PA)	Lijas de 600-1200 CSi y paño de polvo de alúmina de 0,2 μm	Ni, Ti, O, C, N, Zn, Ca, Cu, Al, Na	0,25~0,45	Ni ⁰ , NiTi TiO ₂	1,6 ± 0,2	4,5 ± 0,8
Pulido Diamante (PD)	Lijas de 600-1200 CSi y paño de polvo de diamante de 3 ; 1 y 0,5 μm. (1)	Ti, O, Ni, C	0,2~0,3	Ni ⁰ , NiTi TiO ₂	1,6 ± 0,2	4,5 ± 0,8

Los resultados obtenidos en el pulido alúmina muestra que existe un enriquecimiento de la superficie de Ni obteniéndose una relación de (Ni/Ti)_s de 0,25 ~ 0,45. Este enriquecimiento de la superficie también es el observado por [28,29]. Según Gu y cols. [29] el pulido elimina la capa de óxido y deja al descubierto el NiTi intermetálico. Sin embargo, mediante el pulido diamante parece que ese níquel superficial desaparece y se obtiene una superficie muy homogénea con una relación (Ni/Ti)_s de 0,2 ~ 0,3. Este comportamiento podría deberse a que con el pulido diamante, el cual consigue reducir la rugosidad del sustrato alúmina en un 50 %, esa capa superficial enriquecida en Ni se habría podido eliminar. Ponsonnet y cols. [30] atribuyen la elevada relación (Ni/Ti)_s = 0,25 a la difusión del Ni hacia la superficie durante el pulido.

El perfil de composición en profundidad obtenido por XPS para las láminas pulidas a diamante y usando alúmina se muestran en la figuras 3.7. y 3.8, respectivamente. La concentración atómica de oxígeno y carbón en la superficie de una muestra recién pulida decrece rápidamente después de algunos segundos de decapado. Por otro lado, la concentración de Ti y Ni se incrementa y alcanza un valor estacionario aproximadamente de 30 y 58 % atómico, respectivamente. Que estos valores no concuerden con la

composición teórica (50/50) se puede explicar por la velocidad preferencial de decapado del Ti respecto del Ni tras el bombardeo iónico [31,32].

Ambas láminas pulidas muestran una tendencia similar en la variación del oxígeno, lo que indica que la capa de pasivación es de un espesor de 1,6 ~ 1,7 nm diferente de las estimaciones a partir de la relación Ni/Ti que es de alrededor de 4 nm (tabla 3.4). Estos valores de espesor son los resultados más bajos obtenidos, incluso por debajo de los obtenidos para la capa de TiO₂ en el material recibido que alcanzaban los 6 ~ 8 nm (ver tabla 3.2), lo que indica que, efectivamente, el tratamiento de pulido elimina una gran parte de la capa de pasivación del material recibido.

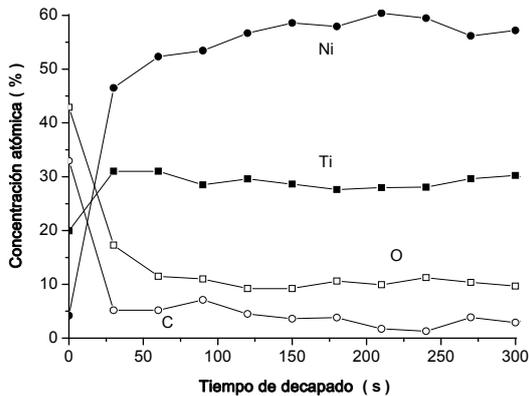


Figura 3.7.- Perfil en profundidad de una lámina pulida acabada con polvo de diamante.

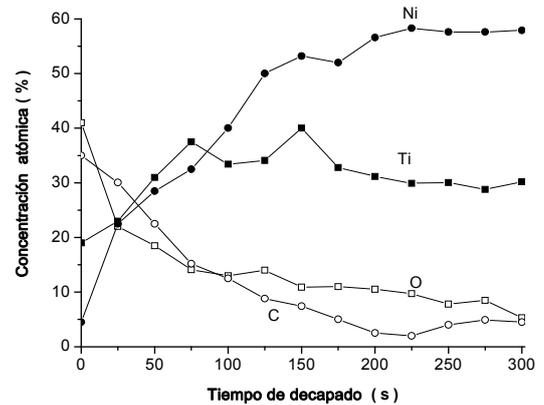


Figura 3.8.- Perfil en profundidad de una lámina pulida acabada con polvo de alúmina.

Es interesante indicar, que el espesor de la capa de oxido que se recoge en la literatura varía en un amplio rango, entre los 52 nm [33] y los 5 nm [34]. A menudo, esto se puede explicar por los diferentes tiempos de exposición de las muestras a condiciones ambientales transcurridos hasta el momento de las mediciones. En algunos ensayos, aunque la relación (Ni/Ti)_s se mantenía constante sobre 0,2 en todas las muestras, los perfiles en profundidad mostraban un incremento de la capa de TiO₂ hasta 8 nm tras un mes de exposición a condiciones ambientales. Dicha capa sería comparable con la del material recibido (6 ~ 8 nm).

3.1.2.6. Pre-tratamiento de pulido mecánico seguido de oxidación química (PDOQ)

Cuando se realizan dos tratamientos seguidos como el PD en un primer paso y a continuación la oxidación química (OQ), (ver apartado 2.1.2.7) se observa que la relación Ni/Ti en la superficie aumenta hasta 0,69. El Ti presente en la superficie es esencialmente el Ti^{4+} , correspondiente al TiO_2 , que tiene una energía de enlace a 459,0 eV y 464 eV para los niveles $2p_{3/2}$ y $2p_{1/2}$, respectivamente. Aunque insignificantes, también se detectaron cantidades de NiTi intermetálico y NiO con un pico a 454,1 eV. El Ni $2p_{3/2}$ presenta un pico a 852,6 eV relativo al Ni metálico (tabla 3.5).

El perfil en profundidad presenta importantes diferencias con las láminas simplemente pulidas, como puede verse en la figura 3.9. En este caso, el carbón en la superficie se eliminó rápidamente después del decapado, pero la concentración de oxígeno decrece mucho más lentamente, indicando la presencia de una capa de TiO_2 mucho más gruesa, alrededor de 16 nm parecida a la que se ha estimado a partir de la relación Ni/Ti que es de 19 nm. Estos resultados concuerdan con Tepe y cols. [35] que encontraron que sumergir un stent previamente pulido en HNO_3 aumentaba el espesor de la capa de TiO_2 .

Los resultados también indican una capa superficial prácticamente libre de Ni, lo que corrobora el hecho de que la oxidación química realiza un ataque preferencial sobre el Ni, provocando su difusión hacia el exterior y lixiviando en la disolución. Por lo tanto se ha conseguido aumentar la capa de TiO_2 de un espesor de 1,6 nm a 16 nm, aunque la relación $(Ni/Ti)_s$ sigue siendo 0,2. Que la relación $(Ni/Ti)_s$ se mantenga constante mientras que la capa de TiO_2 aumente también se observa en otros estudios [20] y es debido a que existe poca variación en la capa más externa en la que siempre se detecta NiO.

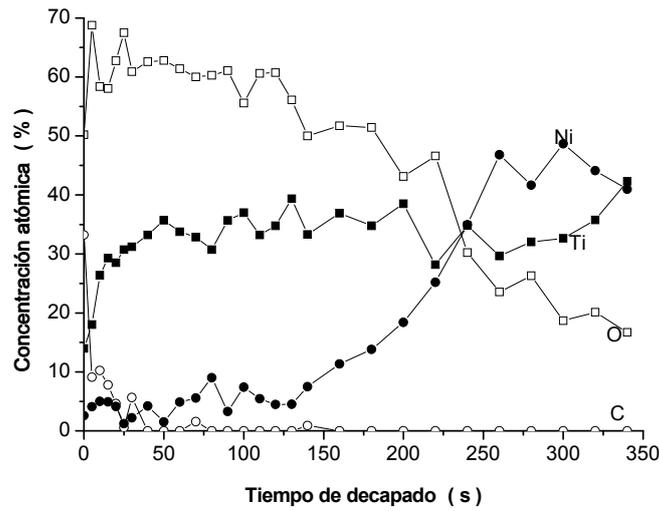


Figura 3.9.- Perfil en profundidad de una lámina PD + tratamiento de oxidación química .

3.1.2.7. Pre-tratamiento de pulido mecánico seguido de tratamiento hidrotermal (PDTH)

En el pre-tratamiento de PDTH el espesor de la capa de TiO_2 es de 10 ~ 16 nm (figura 3.10). El TiO_2 sigue estando presente en la superficie mayoritariamente aunque también se detectan NiTi/NiO. El níquel se detecta como óxido y en estado metálico (tabla 3.5).

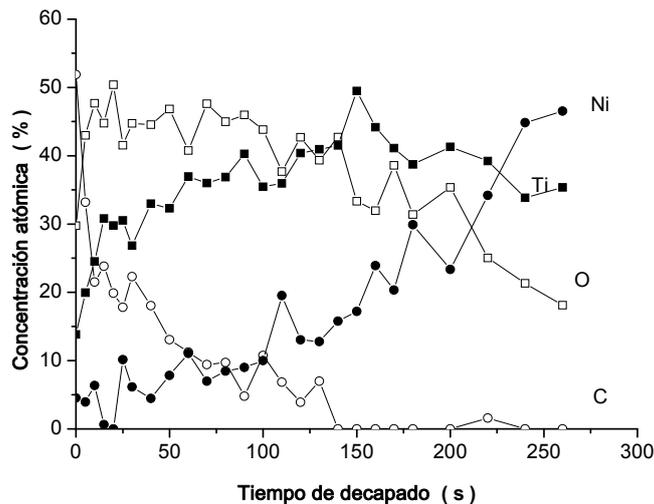


Figura 3.10.- Perfil en profundidad de una lámina PD + tratamiento hidrotermal.

Tabla 3.5.- Resultados XPS para la combinación de pre-tratamientos

Condiciones experimentales		Resultados de XPS				
		Elementos detectados	Relación atómica superficial (Ni/Ti) _s	Estados de oxidación	Espesor de capa de TiO ₂ (nm)	
					Contenido en O	Relación Ni/Ti
PDOQ	PD + OQ	Ti, Ni, O, C	0,20	TiO ₂ , Ni ⁰ , NiTi/NiO	16 ± 1	19 ± 4
OQPD	OQ + PD	Ti, Ni, O, C	0,68~0,70	TiO ₂ , Ni ⁰ , NiTi/NiO	5	5
PDTH	PD + TH	Ti, Ni, O, C	0,32	TiO ₂ , Ni ₂ O ₃ , NiTi/NiO, Ni ⁰	10 ± 1	16 ± 1,5
THPD	TH + PD	Ti, Ni, O, C	0,30~0,39	TiO ₂ , Ni ₂ O ₃ , NiTi/NiO, Ni ⁰	10	10

Como puede verse en la tabla 3.5, se produce un aumento de la relación (Ni/Ti)_s respecto del sustrato pulido a diamante, debido a que posiblemente se produce una difusión de Ni hacia la superficie del material favorecida por la temperatura. El O difundirá hacia el interior del material formándose una capa de TiO₂ de 10 nm, de espesor mayor que la del sustrato pulido de partida. [23]. Este aumento de la relación (Ni/Ti)_s podría deberse a que el tratamiento hidrotermal no es tan selectivo hacia el Ni como en el caso de la oxidación química.

3.1.2.8. Pre-tratamiento hidrotermal seguido de pulido mecánico (THPD)

Con este pre-tratamiento se obtiene un espesor de TiO₂ de 10 nm y en la superficie se encuentra además Ni⁰ y Ni₂O₃, como se indica en la tabla 3.5. Por lo tanto, la capa de óxido disminuye de 16 nm correspondiente al tratamiento hidrotermal a los 10 nm cuando se somete después al pulido a diamante. Por otra parte, los óxidos característicos del tratamiento hidrotermal se siguen detectando. La relación Ni/Ti en la superficie se ha mantenido en el rango característico del tratamiento hidrotermal aunque ha aumentado

ligeramente debido al pulido diamante posterior al tratamiento como se ha visto en casos anteriores.

3.1.2.9. Pre-tratamiento de oxidación química seguido de pulido mecánico (OQPD)

En las láminas que son sometidas a un pre-tratamiento de OQPD, se observa que cuando se realizan estos dos tratamientos, la relación Ni/Ti en la superficie aumenta hasta 0,68 ~ 0,70. El Ti presente en la superficie es esencialmente el Ti^{4+} , correspondiente al TiO_2 , que tiene una energía de enlace a 459,0 eV y 464 eV para los niveles $2p_{3/2}$ y $2p_{1/2}$, respectivamente. Aunque insignificantes, también se detectaron cantidades de NiTi intermetálico y NiO con un pico a 454,1 eV. El Ni $2p_{3/2}$ presenta un pico a 852.6 eV relativo al Ni metálico. Los resultados se muestran en la tabla 3.5.

El espesor de la capa de TiO_2 lógicamente disminuye debido al PD que se realiza tras el tratamiento de oxidación, mientras que los óxidos que se detectan son los mismos que los detectados en las superficies tratadas por el método de oxidación química. Lo que llama la atención es el aumento en este caso de la relación $(Ni/Ti)_s$ que ha aumentado hasta 0,69 aproximadamente, lo que podría indicar que debajo de la superficie libre de Ni, característica de este tratamiento existe una capa rica en Ni que quedaría expuesta tras el pulido. Este resultado estaría de acuerdo a la estructura en capas que menciona O'Brien y cols. [7] para tratamientos de oxidación química similares a los utilizados. O'Brien y cols., parten de un alambre pulido con un espesor de capa de óxido de 10 a 20 nm que ha sido sometido a un tratamiento térmico de 500 °C donde se alcanza de un espesor de 80 a 180 nm. Este sustrato lo someten a la oxidación química y aunque obtienen espesores de capa de óxido superficial entre 70 y 170 nm, seguramente el comportamiento superelástico del material habrá sido eliminado por el tratamiento a altas temperaturas como se demuestra en el presente trabajo, aunque dichos autores no lo mencionan.

3.1.2.10. Material recibido sumergido 15 y 70 días en SBF

Las láminas de Nitinol sumergidas en SBF durante 15 y 70 días también fueron sometidas a ensayos de XPS en los que se detectaron en la superficie carbón, oxígeno, calcio, nitrógeno, fósforo, titanio y níquel como se muestra en las figuras 3.11 y 3.12.

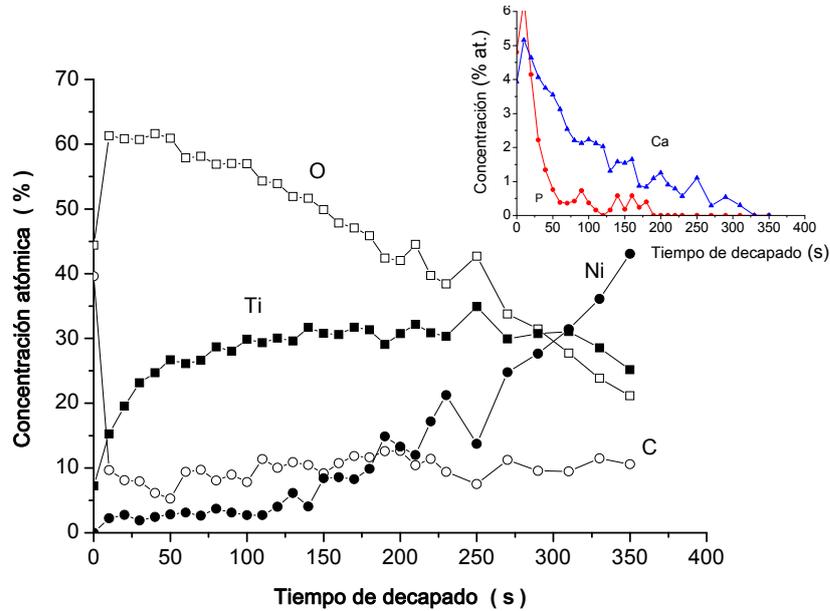


Figura 3.11.- Perfil de XPS de una lámina pulida a diamante sumergida en SBF durante 15 días. En la parte superior derecha el perfil de los elementos de P y Ca para la misma lámina.

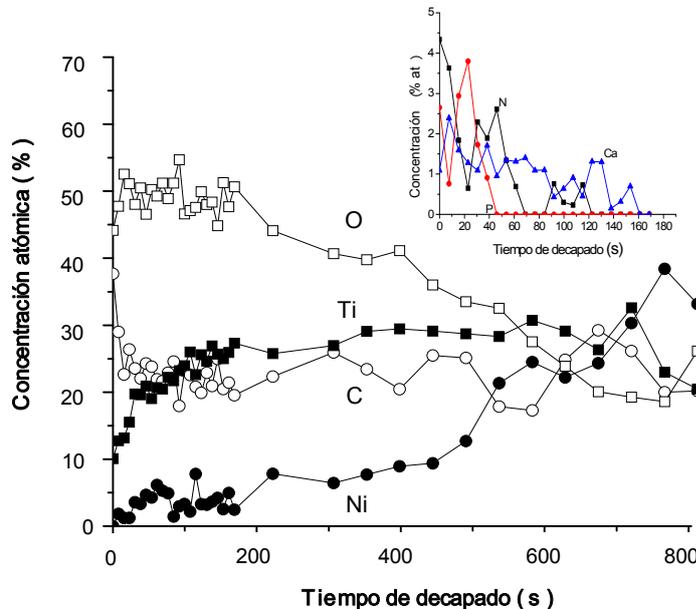


Figura 3.12.- Perfil de XPS de una lámina pulida a diamantes sumergida en SBF durante 70 días. En la parte superior derecha el perfil de los elementos de N, P y Ca para la misma lámina [36].

La presencia atómica de N, P y Ca es muy baja y únicamente en la superficie más exterior, porque su concentración decrece a valores indetectables después de 50 s de decapado (3,13 nm). El Ti en superficie aparece como Ti^{4+} y el Ni aparece después de 5 s de decapado. Por otra parte, el perfil en profundidad indica un incremento en la capa de TiO_2 conforme aumenta el tiempo sumergido en SBF, pasando de los 8 nm para el material recibido a 19 nm transcurridos 15 días y a 35 nm a los 70 días. Esto está en desacuerdo con los resultados obtenidos por Filip y cols. [37] que dicen que la capa de óxido es estable y no sufre modificaciones en un implante tras 372 días en el cuerpo humano.

Este aumento progresivo de la capa de TiO_2 sería normal puesto que el material formaría espontáneamente una capa de pasivación en contacto con el SBF [28]. También, el Nitinol sumergido en disoluciones de Hanks provocan un cambio en el perfil en profundidad del Ti debido a la formación de óxido [38]. El incremento de la capa de TiO_2 puede ser consecuencia de la reacción superficial del Ti con el HCl presente en la disolución que se usa para ajustar el pH a 7.4 [39]:



3.1.2.11. Resumen

Todos los resultados de XPS de los tratamientos efectuados, excepto el de pulido, han aumentado la capa de óxido presente en la superficie del material (tabla 3.6).

El pre-tratamiento hidrotermal ha sido el que mayor capa de óxido ha obtenido, seguramente debido a que la temperatura ha favorecido la difusión hacia el exterior del Ni y al ser un tratamiento menos agresivo, ha favorecido también la formación de óxidos de Ni en la superficie, al contrario que el pre-tratamiento de oxidación química que disolvía el Ni preferencialmente, lo que ha podido contribuir a obtener un espesor de capa ligeramente menor.

Sin embargo, en el caso de los tratamientos sobre el sustrato pulido, el tratamiento de oxidación química ha alcanzado una capa de 16 nm frente a la del tratamiento hidrotermal de 20 nm (tabla 3.6). Esto podría deberse a que al encontrarse el sustrato pulido y la superficie más homogénea, sería más difícil poder oxidarla. En este caso el tratamiento de oxidación química que es más agresivo, conseguiría un mejor resultado. De todas maneras, estos resultados están muy lejos de los obtenidos con otros tratamientos más intensos. Por ejemplo, un tratamiento térmico a 500 °C sobre alambres pulidos de Nitinol y una posterior oxidación química similar a la realizada en el presente trabajo (apartado 2.1.2.2), conduce a espesores de capa de 70 a 140 nm [7]. Muestras de Nitinol tratadas en un proceso de oxidación catalítico de UV/H₂O₂ alcanzan unos espesores de capa de óxido de 350 nm [40] y muestras oxidadas hirviéndolas en una disolución de H₂O₂ durante 2 h obtendrían una capa de 500 nm [26]. A pesar del aumento enorme del espesor de la capa de TiO₂ obtenido utilizando altas temperaturas [7], no se comenta nada en dicha referencia de lo que ocurre con la microestructura total del material y por consiguiente de las propiedades mecánicas, tales como la superelasticidad. Sin embargo, los resultados obtenidos en el presente trabajo, expuestos en el apartado 3.1.5.2, indican que todos aquellos tratamientos que implicaban temperaturas superiores a 350 °C o tiempos prolongados de exposición a altas temperaturas, conllevaban una pérdida de las propiedades de superelasticidad. Por otro lado, si bien es verdad que los tratamientos de oxidación catalítica [40] y el de hervido en H₂O₂ utilizan temperaturas de 60 °C y 100 °C respectivamente, el tiempo de exposición de 24 h para el primero de ellos y 2 h para el segundo podría ser suficientemente alto como para tener un efecto de recocido y eliminar tensiones de modo que podría afectar a la propiedad de superelasticidad. Además la aplicación para la que se pretende utilizar dicho material es la de memoria de forma y no indican nada de cómo afecta el tratamiento a la superelasticidad que es la propiedad que nos interesa mantener. Sin embargo, los tratamientos que se han llevado a cabo en el presente trabajo obtienen una capa de TiO₂ de menor espesor pero mediante ensayos de flexión se ha demostrado que no se ha perdido la propiedad de la superelasticidad del material. Otros estudios trabajan con muestras de Nitinol anodizadas galvanostáticamente en ácido acético [41] y también procesadas

mediante fusión de la superficie con láser [33] mostrando un incremento de capa de óxido aproximadamente de unos 20 nm, similares a los valores obtenidos en este trabajo.

De todos los tratamientos sólo el tratamiento de calcinación provoca un aumento de la concentración de Ni mayor que la de Ti, dejando la relación superficial de $(\text{Ni}/\text{Ti})_s$ en 1,66 y esto se debe a que los tratamientos a altas temperaturas favorecen la difusión del Ni hacia la superficie [20,23,26,28].

En todos aquellos tratamientos en los que rugosidad del sustrato era menor de 35 nm, se detectó la presencia de níquel metálico dentro de la capa de óxido, lo cual es sorprendente. Este resultado, reproducible en los experimentos, podría estar asociado a que la rugosidad del material hace que el análisis XPS pueda recoger señales de Ni^0 del interior del material. Este comportamiento concuerda con el trabajo de Filip y cols. [37] que indica que los procesos de pasivación van acompañados de un crecimiento de la capa de TiO_2 donde el Ni^0 puede ser detectado en cantidades muy pequeñas. Aunque también podría deberse a que el proceso de formación de la capa de TiO_2 sirve como fuerza impulsora para la migración del Ni hacia el interior del sustrato donde existe mayor concentración de TiO_x ($x < 4$), esta migración se produciría con valencia cero (Ni^0) [42]. Algunos estudios [43], insisten en la importancia de Ni en superficie, indicando que su existencia al oxidarse en la superficie a Ni^{3+} , y posterior la liberación de iones Ni^{3+} a un medio corrosivo implica una fuerte carga negativa asociada a la interfase (3 electrones por cada átomo de Ni lixiviado) y por lo tanto un carácter donador de electrones de la superficie del Nitinol, asociando a esta interfase de carácter negativa. Dado el carácter negativo de las plaquetas, este comportamiento de la superficie redundaría en una reducción de la capacidad de formación de trombos en la superficie.

Tabla 3.6.- Resumen de los resultados de XPS para los distintos tratamientos de la superficie del Nitinol

Condiciones experimentales	Resultados de XPS				
	Elementos detectados	Relación atómica Ni/Ti	Estados de oxidación	Espesor de capa de TiO ₂ (nm)	
				Contenido en O	Relación Ni/Ti
MR	Ni, Ti, Cu, O, C, N, Zn, Ca	0,07~0,25	TiO ₂ , Ni ₂ O ₃ , NiO	8 ± 5	6 ± 3
MR decapado	Ni, Ti, Cu, O, C, N, Zn	1,21	Ti ²⁺ , Ti ³⁺ , Ti ⁴⁺ , Ni ₂ O ₃	-	-
OQ	Ni, Ti, O, C, N, Ca, Si	0,09~0,36	TiO ₂ , NiO, NiTi	16 ± 2	18 ± 4
Calcinación	Ni, Ti, Cu, O, C, N, Zn, Ca, K	1,66	TiO ₂ , Ni ₂ O ₃	-	-
TH	Ni, Ti, Cu, O, C, N, Zn, Ca	0,08~0,18	TiO ₂ , Ni ₂ O ₃ , NiTi	20 ± 10	14 ± 8
PA	Ni, Ti, O, C, Si, N, Zn, Ca, Al, Na	0,25~0,45	TiO ₂ , Ni ⁰ , NiTi	1,6 ± 0,2	4,5 ± 0,8
PD	Ni, Ti, O, C, Si, N, Zn, Ca, Na	0,20~0,3	TiO ₂ , Ni ⁰ , NiTi/NiO, Subóxidos de TiO ₂	1,7 ± 0,2	3,7 ± 1,4
PDOQ	-	0,20	TiO ₂ , Ni ⁰ , NiTi/NiO	16 ± 1	19 ± 4
PDTH	-	0,32	TiO ₂ , Ni ₂ O ₃ , NiTi/NiO, Ni ⁰ .	10 ± 1	16 ± 1,5
THPD	Ti, Ni, O, C	0,30~0,39	TiO ₂ , Ni ₂ O ₃ , NiTi/NiO, Ni ⁰ .	10	10
OQPD	Ti, Ni, O, C	0,68~0,70	TiO ₂ , Ni ⁰ , NiTi/NiO	5	5

3.1.3. Rugosidad de la superficie

Una de las características físicas importantes de la superficie del Nitinol es su rugosidad. Dicha rugosidad podría afectar tanto a los distintos recubrimientos que se pretenden realizar como a su resistencia a la corrosión como en el caso del acero inoxidable 316 LVM [44] en el que la menor rugosidad por debajo de 14 nm favorecía la resistencia a la corrosión.

Para el estudio de rugosidad del material se utiliza un microscopio confocal (ver apartado 2.1.4.5) y por los datos que se obtienen se parte de un material muy rugoso (R_a) de $775 \text{ nm} \pm 110 \text{ nm}$ como se puede verse en la figura 3.13-a pese a ser un material laminado previamente. Además en el MR se detecta algunas grietas en la superficie del material. Las medidas de rugosidad se realizaron evitando las grietas y orificios.

En la tabla 3.7. se refleja la rugosidad media R_a de los diferentes tratamientos. Se observa una diferencia clara entre las muestras pulidas y las que no experimentan estos tratamientos mecánicos. También se observa que una vez pulida la muestra, la rugosidad de ésta apenas se ve afectada por los tratamientos posteriores. El valor mínimo $R_a = 14 \pm 4 \text{ nm}$ se consigue para la muestra pulida con polvo de diamante seguida de un tratamiento posterior hidrotermal, figura 3.13-b.

Las imágenes de SEM muestran que el material recibido tiene algunas grietas y agujeros distribuidos de manera aleatoria por la superficie, que tras la oxidación química con HNO_3 su número aumenta en la superficie del Nitinol (figura 3.13-c), debido al dekapado químico producido sobre la superficie. También se observa que los materiales pulidos muestran un número reducido de defectos, figura 3.13-b,e,f debido seguramente a que la suspensión de diamante con que se finaliza el proceso de pulido provoca alguna incrustación de dicho material en la superficie del Nitinol.

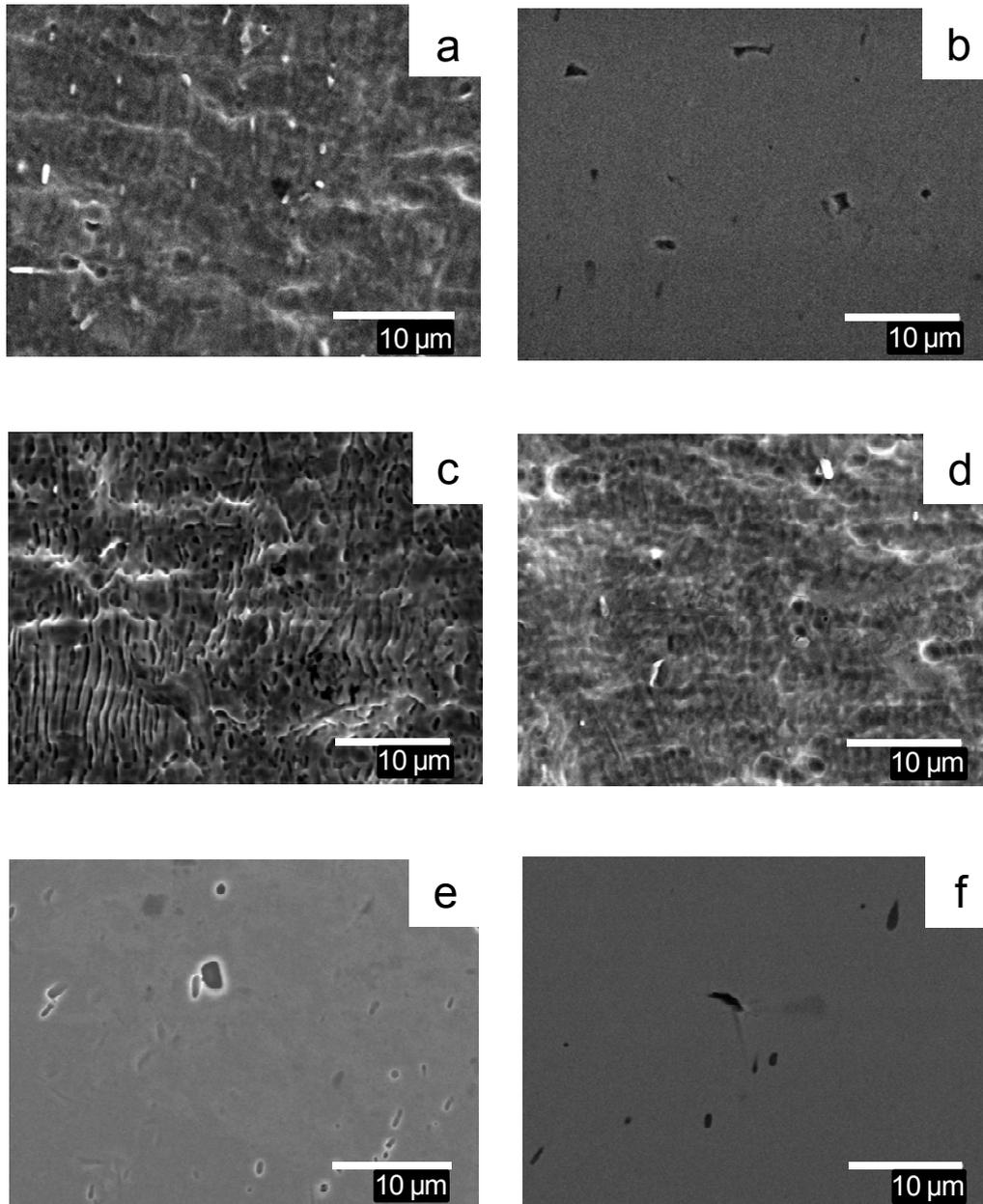


Fig. 3.13.- Fotografía SEM del Nitinol después de varios tratamientos
 a) MR b) PD c) OQ d) TH e) PDOQ f) PDTH

El tratamiento hidrotermal sobre la superficie de Nitinol después del pulido con dispersión de diamante (PDTH) también disminuye ligeramente la rugosidad del sustrato de partida (figura 3.13-f), mientras que no se aprecia disminución de la rugosidad después del ataque químico (PDOQ) (fig. 3.13-e). Esto puede ser debido a que el tratamiento hidrotermal aunque sea menos agresivo, afecta tanto al Ti como al Ni, mientras que el de la oxidación química disolvía preferencialmente el Ni y tal como se indicó en el apartado 3.1.2.5, el tratamiento de pulido diamante lograba obtener una superficie libre de Ni.

Por otro lado, el ensayo de corrosión tiene poco o muy poco efecto en la rugosidad de la superficie. En general, todas las superficies tienden a disminuir su rugosidad tras el ensayo de corrosión aunque éste efecto es más marcado en las superficies con una rugosidad mayor de 35 nm.

Tabla 3.7.- Resultados de las medidas de rugosidad para las distintas superficies del Nitinol estudiadas

Sustrato	Rugosidad de la superficie (nm)
Recibido	665-886
Oxidación química en el sustrato recibido	608-701
Oxidación hidrotermal en el sustrato recibido	526-680
Pulido terminado con suspensión de alúmina	20-35
Pulido terminado con suspensión de diamante (PD)	10-18
PDOQ	10-18
PDTH	7-14
OQPD	10-18
THPD	10-18

3.1.4. Ángulo de contacto

En la tabla 3.8 se muestran los resultados para las medidas de ángulo de contacto. Aunque algunos de los valores están muy próximos se puede considerar que son estadísticamente significativos ($p < 0,001$). La superficie más hidrofílica es la del material recibido que tiene un valor de $68 \pm 4^\circ$. Los demás tratamientos provocan un aumento del ángulo de contacto como en el caso del pulido con alúmina o con diamante que provocan un aumento hasta $80 \pm 2^\circ$ u $85 \pm 3^\circ$ respectivamente (tabla 3.8). Posiblemente debido a dos circunstancias, la primera es el cambio producido en la capa de óxidos superficiales (ver tabla 3.6) y la segunda es que tras los pulidos y el lavado posterior de las piezas se detecta por EDX que en la superficie permanecen pequeñas incrustaciones tanto de polvo de alúmina como de diamante procedentes del pulido que también podrían cambiar las propiedades superficiales, volviendo a la superficie más hidrofóbica.

El ángulo de contacto depende de varios factores como pueden ser la composición de la aleación, la fase de la capa de óxido, y la rugosidad de la superficie. Ponsonnet y cols. [45] depositaron gotas de agua sobre la superficie del Nitinol y encontraron que la gota modificaba su forma debido a la rugosidad de ésta. Concluyeron que la rugosidad influía en gran manera la mojabilidad de la superficie y por lo tanto, la medida de ángulos de contacto en superficies rugosas podrían dar valores no del todo correctos. Sus resultados muestran, que conforme disminuye la rugosidad disminuye el ángulo de contacto, al contrario que los obtenidos en este trabajo. No obstante, los resultados no pueden compararse ya que, como se ha dicho antes, existen varios factores que pueden influir en el resultado, por un lado la composición de la aleación de Nitinol es distinta en ambos casos, Ponsonnet y cols. utilizan la composición (55.4 at.% Ni y 44.6 at.% Ti) mientras que en el presente proyecto es de (50,8 at.% Ni y 49,2 at.% Ti), la rugosidad final alcanzada también es distinta, mientras que Ponsonnet y cols. alcanzan una rugosidad mínima de 57 nm, la rugosidad mínima alcanzada en este trabajo es de 7~10 nm y por último, mientras que Ponsonnet y cols. finalizan su pulido con lijas de SiC2400, el acabado en este trabajo se realiza con paños de alúmina y paños de polvo de diamante que podrían influir en el ángulo de contacto. En general, se espera que las superficies hidrofóbicas tengan un mejor comportamiento de resistencia frente a la corrosión, porque, en disoluciones acuosas, una superficie hidrofóbica se mojaría menos. Así ocurre en nuestro caso, que a excepción de la muestra oxidada químicamente se comprueba que conforme aumenta el ángulo de contacto, aumenta el potencial de corrosión de las muestras ensayadas, ver figura 3.27 en el apartado 3.1.6.10.

Tabla 3.8.- Resultados de las medidas de ángulo de contacto para las distintas superficies del Nitinol estudiadas.

Tratamiento superficial	Ángulo de contacto (°)
Recibido	68 ± 4
Pulido diamante	85 ± 3
Pulido alúmina	80 ± 2
Oxidación química sobre sustrato recibido	94 ± 3
Oxidación hidrotermal sobre sustrato recibido	81 ± 1
PDOQ	95 ± 2
PDTH	83 ± 4

Los resultados obtenidos en los materiales pulidos tanto alúmina como diamante son semejantes a los obtenidos en [46] aunque en esta publicación las medidas se realizaron sobre sustratos en los que antes del pulido el material se sometió a una oxidación química con una disolución de HF+HNO₃ para evitar deformaciones durante el cortado. Los resultados de pulido a diamante y de oxidación química posterior sobre el sustrato también concuerdan con los obtenidos en [47] sobre una aleación de Nitinol (CW25-BB-34 x 125) con un 55,83 % Ni, tras un tratamiento en una disolución del 30 % HNO₃ a 40 °C durante 24 h. Este aumento en el ángulo de contacto fue interpretado como el resultado de la desorción de moléculas de agua atrapadas dentro de los defectos de la capa de óxido [43].

3.1.5. Experimentos de flexión

Una vez realizado todos los tratamientos y recubrimientos anteriores se ha de comprobar que ninguno de ellos ha provocado un cambio en la estructura del material que implique la pérdida de una de las propiedades más importantes como es la superelasticidad cuando está sometido a tensiones mecánicas durante su aplicación como prótesis o dispositivo de liberación de fármacos. Las láminas se sometieron a ensayos de flexión por 3 puntos (apartado 2.1.4.9) y sometidos a ensayos con deformaciones máximas de 1 ó 2 mm. Hay que indicar que la deformación producida a 2 mm es mucho más elevada que la que un stent de Nitinol soportaría cuando opera en el interior del

cuerpo humano. En nuestros experimentos, para una separación de 10 mm entre los dos puntos de apoyo de la lámina de Nitinol y alcanzando una deformación de 2 mm, el porcentaje de máxima deformación obtenida fue 12 %. Por término medio, las deformaciones máximas que se producen en un stent coronario y de colon varían entre un 2~3 % y un 7~8 %, respectivamente [48]. Por encima de un 8 % hace al material altamente deseable para prótesis de ligamentos [49] y para cirugía craneo-maxilofacial aunque en estos casos por encima del 8 % se pierda parte del carácter superelástico [50].

Los resultados obtenidos de cada uno de los distintos tratamientos se indican en los siguientes apartados.

3.1.5.1. Material recibido (MR)

Como era de esperar, el material recibido se comporta como superelástico. La lámina de material recibido fue sometida primero a una deformación de 1 mm y a continuación a otra de 2 mm. Como puede observarse en la figura 3.14 en ambos casos recupera su forma original sin sufrir deformación alguna.

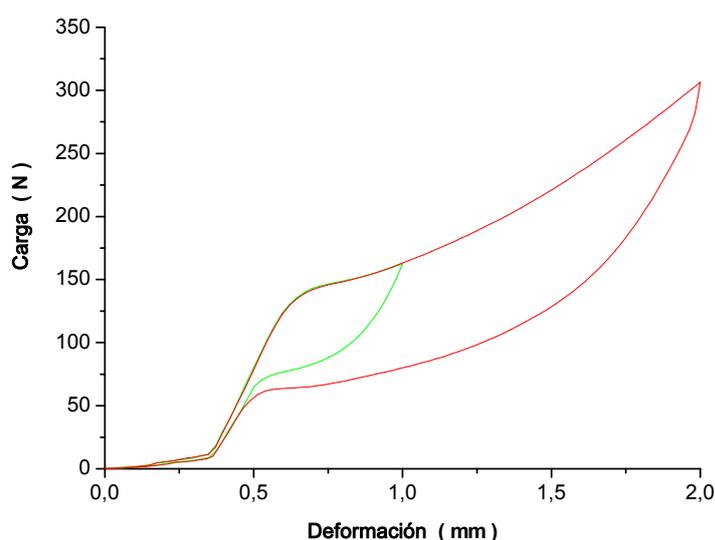


Figura 3.14.- Ensayo de flexión por tres puntos sobre el material recibido 1 y 2 mm de deformación.

3.1.5.2. Material calcinado

Para el material calcinado a 600 °C, se observa que el material pierde rápidamente sus propiedades mecánicas (superelasticidad), los resultados muestran que el material se deforma bajo cargas muy bajas y en la descarga no recupera su forma original como se puede ver en la figura 3.15. Con el fin de intentar evitar esta deformación plástica se realizaron tratamientos térmicos a temperaturas más bajas, 450 °C y 380 °C ambas durante 8 h. Como se observa en la figura 3.15, en ambos casos la curva de descarga termina con una deformación plástica del 6 %, muy apartada de la correspondiente a un comportamiento superelástico que es prácticamente cero tal como presenta el material recibido. También se puede apreciar el marcado efecto de la temperatura ya que cuanto mayor es ésta, la carga necesaria para producir una deformación plástica en el material es menor.

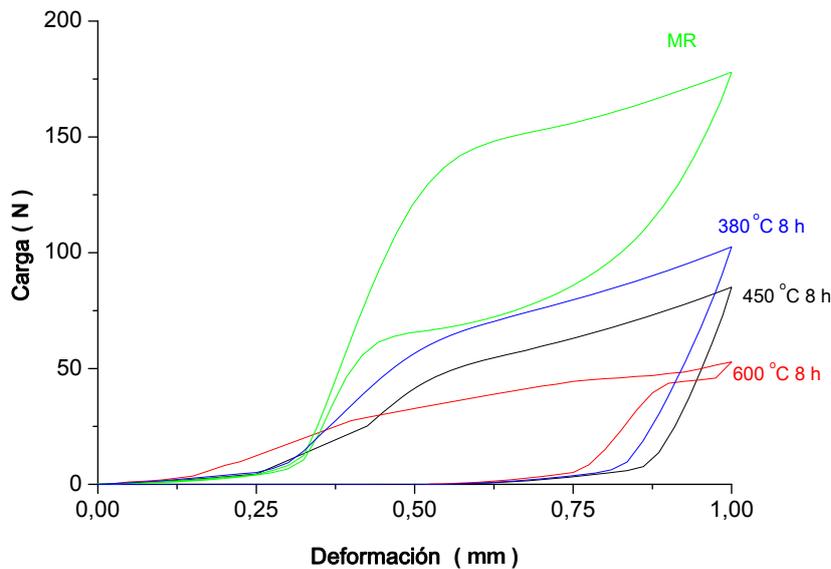


Figura 3.15.- Ensayo de flexión por tres puntos sobre el material calcinado a distintas temperaturas comparado con el material recibido.

3.1.5.3. Pre-tratamiento de oxidación hidrotermal

Como se puede observar en la figura 3.16. la temperatura de 100 °C y el tiempo sometido de 30 minutos que se utilizan para el pre-tratamiento de oxidación hidrotermal no perjudican las propiedades mecánicas del material y

las curvas, tanto en el material recibido como el que sufre oxidación hidrotermal, se ajustan a las de un material superelástico recuperando su forma original sin sufrir ninguna deformación.

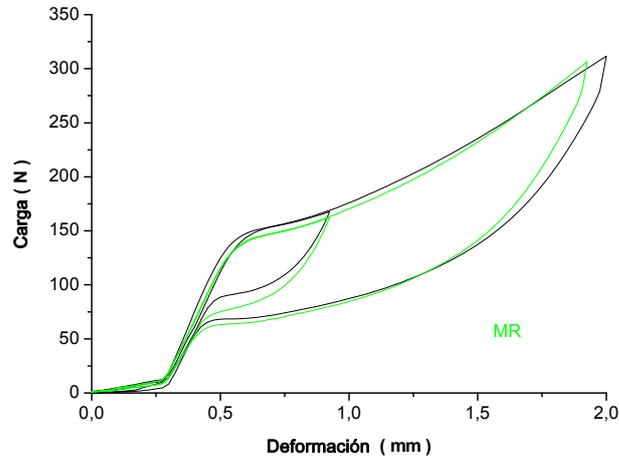


Figura 3.16.- Ensayo de flexión por tres puntos sobre el material tratado térmicamente 1 y 2 mm de deformación comparada con el material recibido.

3.1.5.4. Pre-tratamiento de pulido diamante

El material pulido a diamante se comporta de forma muy similar al material recibido y tampoco pierde sus propiedades mecánicas tras el pulido y se sigue comportando como un material superelástico, figura 3.17. Por lo tanto, el material pulido se puede utilizar como material de partida para recubrimientos posteriores.

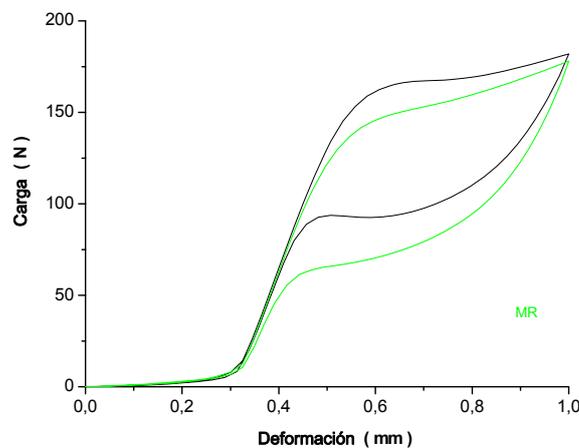


Figura 3.17.- Ensayo de flexión por tres puntos sobre el material pulido a diamante comparado con el material recibido.

3.1.6. Ensayos de corrosión

Como material de aplicación biomédica que es el NiTi, su resistencia a la corrosión es muy importante. Muchos trabajos que analizan este aspecto se basan en los ensayos de polarización y en las curvas de polarización resultantes [51-53]. Mediante este ensayo se obtienen entre otros datos, el potencial de corrosión y la densidad de corrosión que se usan como indicadores de la resistencia a la corrosión; cuanto mayor sea el potencial de corrosión y más bajo el valor de la intensidad de corrosión mejor será la resistencia frente a la corrosión del material en el medio ensayado [54,55].

La resistencia a la corrosión del Nitinol radica en la presencia de una capa de óxido en su superficie. Muchos estudios han demostrado que esa capa pasiva es principalmente óxido de titanio (TiO_2), similar a la que se forma en las aleaciones de titanio [56]. En el apartado 3.1.2, se ha observado la formación de dicha capa principalmente formada por TiO_2 y TiO . Dicha capa se ha formado tanto de manera espontánea, sumergiendo el material en SBF (a los 70 días la capa de TiO_2 formada era de 35 nm de espesor), o tras los distintos tratamientos de pasivación efectuados al material. En estos casos mediante oxidación química se alcanzaba una capa de 16 nm y tras el tratamiento hidrotermal una de 20 nm (en la que también se detectaba Ni_2O_3). En general la capa de TiO_2 sirve para dos propósitos [56,57]:

- Incrementa la estabilidad de la superficie del material y protege el núcleo del material de la corrosión.
- Protege frente a la oxidación del níquel ya que mientras la capa de TiO_2 crece, el Ni^0 difunde hacia el interior del sustrato donde hay gran concentración de TiO_x ($x < 4$) [42].

Como se ha ido viendo en los anteriores apartados, los distintos pre-tratamientos y recubrimientos han ido cambiando la superficie del material, por lo tanto se espera que su respuesta a los ensayos de corrosión sea distinta. A continuación se mostrarán los ensayos realizados para cada una de las

superficies estudiadas utilizando disolución de Hanks a temperatura ambiente y pH = 7,4 como medio corrosivo.

3.1.6.1. Material recibido

La figura 3.18 muestra las curvas de polarización para el material recibido, donde se observa que el potencial de corrosión E_{corr} se sitúa en los -281 ± 21 mV y mediante el método de Tafel [58,59] se puede obtener que la densidad de corrosión i_{corr} es de $(4,29 \pm 0,38) \cdot 10^{-9}$ A/cm². Para potenciales mayores de -281 mV la densidad de intensidad va aumentando lentamente hasta que se llega a los 1064 ± 18 mV y la fina capa de óxido que se haya podido formar se rompe dando lugar a un aumento de la intensidad muy elevado. Este punto se conoce como potencial de transpasivación. El tramo comprendido entre los -100 y los 1064 mV es donde el material forma la capa de óxido protectora y la intensidad de pasivación i_p , se mantiene constante (ver apartado 2.1.4.8). Sin embargo, en este caso, se puede apreciar que el material no ha formado una capa pasiva lo suficientemente homogénea y resistente como para mantener constante la intensidad durante ese rango de potenciales, aunque por otro lado, la intensidad aumenta muy despacio y presenta valores bajos [54]. Este comportamiento podría deberse a una falta de engrosamiento de la capa de óxido o a la oxidación del TiO o Ti₂O₃ para dar TiO₂ tal como se señala en [60,61].

En la figura 3.18 también se puede observar que para un potencial de 133 mV se produce un pico de intensidad [58]. Este pico de intensidad puede deberse a una disolución localizada de Ti asociada a la rotura de la capa pasiva formada por TiO_2 , lo que produce un incremento en la intensidad de corriente. La reparación de la capa y repasivación del Nitinol haría que la intensidad recuperara su valor previo [62].

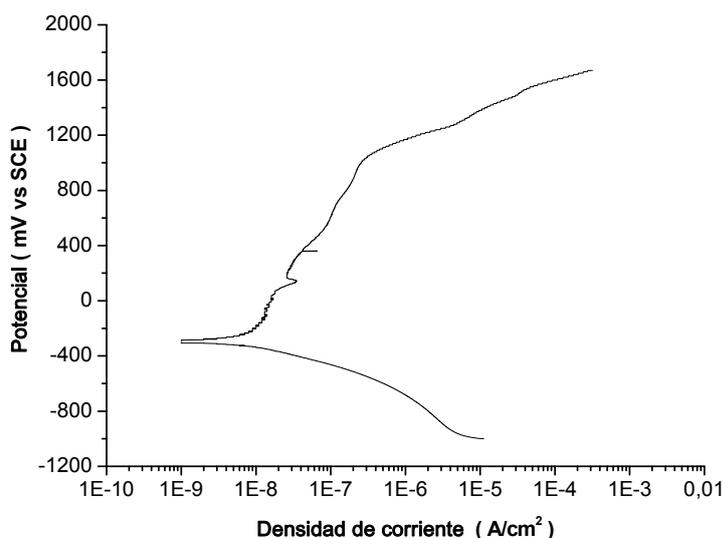


Figura 3.18.- Curvas de polarización del material recibido.

3.1.6.2. Pre-tratamiento por oxidación química

La figura 3.19 muestra las curvas de polarización para el material recibido sometido a un pre-tratamiento de oxidación química. En ella se observa que el potencial de corrosión E_{corr} se sitúa en los -240 ± 38 mV y la densidad de corriente i_{corr} en $(4,03 \pm 0,41) \cdot 10^{-9}$ A/cm². Para potenciales mayores de -240 mV la densidad de intensidad va aumentando, parece que a potenciales cercanos a -12,7 mV el material tiende a pasivarse con una $i_p = 1,58 \cdot 10^{-8}$ A/cm². Esa capa sufre rápidamente un pico de intensidad a 133 mV [58,62] a continuación, el material se repasiva y la intensidad aumenta hasta que la capa pasiva débil inicial que desaparece es sustituida por otra más fuerte para potenciales entre 707 mV y el potencial de transpasivación a 1159 ± 16 mV [60], En este rango de potenciales el material se comporta como

material pasivo y lleva asociada una intensidad de pasivación $i_p = 5,79 \cdot 10^{-7}$ A/cm². Los pequeños saltos en las gráficas se deben a ruido eléctrico [63].

En este caso, según los ensayos de XPS se ha obtenido una capa pasiva de un espesor de 16 ± 2 nm, pero este aumento de espesor no va relacionado con un aumento de la resistencia a la corrosión. Debido posiblemente a que dicha capa de óxido no es homogénea lo que estaría de acuerdo con lo que indican algunos autores [64] que es preferible una capa de TiO₂ fina y homogénea a una capa mayor que no sea homogénea. Lo que si implica es que a potenciales altos este NiTi se comporta de manera clara como un metal pasivado.

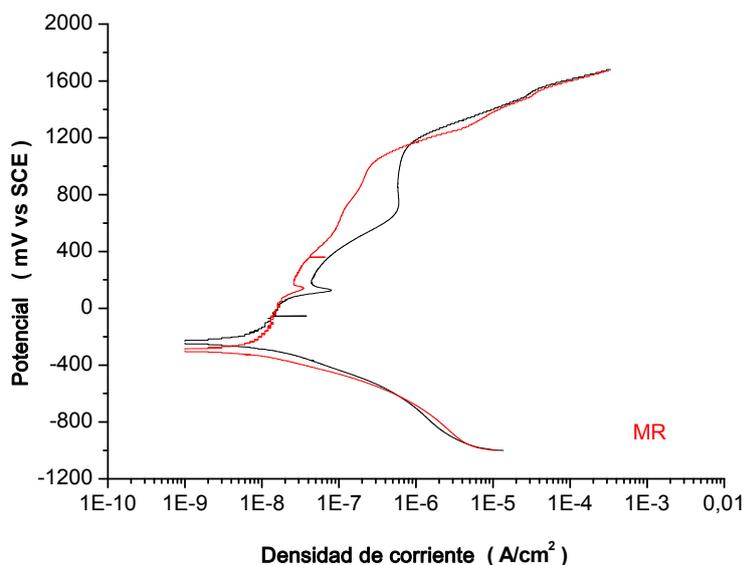


Figura 3.19.- Curvas de polarización del material pre-tratado por oxidación química comparada con el material recibido.

3.1.6.3. Pre-tratamiento por oxidación hidrotermal

La figura 3.20 muestra las curvas de polarización para el material recibido sometido a un pre-tratamiento de oxidación hidrotermal, donde se observan valores del potencial de corrosión $E_{\text{corr}} = -164,6 \pm 10,7$ mV y de densidad de corriente i_{corr} de $(1,06 \pm 0,50) \cdot 10^{-9}$ A/cm². Para potenciales superiores a -164,6 mV el material se pasiva rápidamente y la intensidad de pasivación $i_p = 1,7 \cdot 10^{-8}$ A/cm² se mantiene inalterable en un rango de potencial comprendido entre 20 y 800 mV aproximadamente, sin que se observe ningún pico de intensidad. Todo ello indica que la capa de TiO₂ observada por XPS de espesor de 20 ± 10 nm es homogénea, consiguiendo que el material pase rápidamente a estado pasivo y mejorando las propiedades de corrosión del Nitinol recibido.

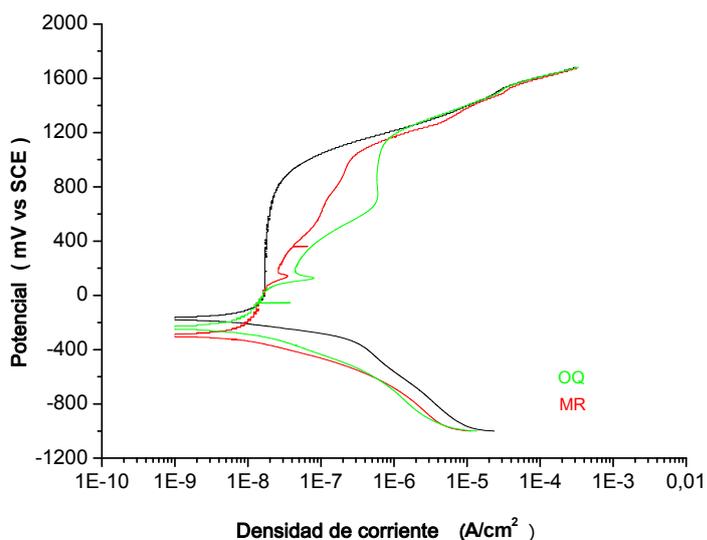


Figura 3.20.- Curvas de polarización del material pre-tratado por oxidación hidrotermal comparadas con las de oxidación química y material recibido.

3.1.6.4. Pre-tratamiento por pulido mecánico finalizado con dispersión de polvo de alúmina

La figura 3.21 muestra las curvas de polarización para el material recibido sometido a un pre-tratamiento de pulido mecánico finalizado con dispersión de polvo de alúmina, que proporciona $E_{\text{corr}} = -152 \pm 2,3$ mV e $i_{\text{corr}} = (2,76 \pm 0,37) \cdot 10^{-8}$ A/cm². Para potenciales mayores de -152 mV la

densidad de corriente va aumentando y parece que a potenciales cercanos a - 23 mV el material tiende a pasivarse con una intensidad $i_p = 1,77 \cdot 10^{-7} \text{ A/cm}^2$, aunque esa capa es débil y sufre rápidamente un pico de intensidad a 133 mV [58], que corresponde a la ruptura de la capa. Después la capa rápidamente se repasa, y a potenciales mayores de 133 mV se vuelve a formar una capa pasiva más resistente y homogénea que mantiene la intensidad aproximadamente constante en un valor de $i_p = 5,8 \cdot 10^{-7} \text{ A/cm}^2$. Ocurre como en el caso de la oxidación química que una capa de óxido débil, es rápidamente sustituida por otra más fuerte y homogénea [60]. En este caso, aunque el espesor deducido por XPS era de $1,6 \pm 0,2 \text{ nm}$, menor que el del material recibido ($8 \pm 5 \text{ nm}$), la capa de TiO_2 que se forma es capaz de pasivar el material y proteger el núcleo de la corrosión durante un amplio rango de potencial ($\sim 1000 \text{ mV}$), lo que vuelve a coincidir con los resultados obtenidos por Trépanier y cols. [64] en los que señala las ventajas de una capa fina pero homogénea de TiO_2 respecto a la resistencia a la corrosión.

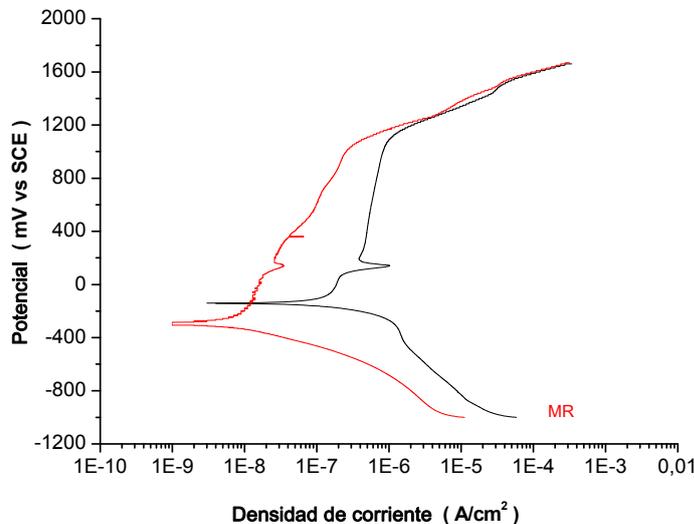


Figura 3.21.- Curvas de polarización del material pulido finalizado con dispersión de polvo de alúmina comparada con el material recibido.

Este tratamiento aunque empeora la intensidad de corrosión aumentándola, mejora los resultados de corrosión aumentando el potencial de corrosión (aumenta el rango de potenciales en los que el material actúa como cátodo y por lo tanto no se oxida) además de favorecer la formación de una capa fina y homogénea de TiO_2 que pasiva el metal e impide su corrosión.

3.1.6.5. Pre-tratamiento por pulido mecánico finalizado con dispersión de polvo de diamante

La figura 3.22 muestra las curvas de polarización para el material recibido sometido a un pre-tratamiento de pulido mecánico finalizado con dispersión de polvo de diamante. De la curva se obtiene $E_{\text{corr}} = -140 \pm 12 \text{ mV}$ e i_{corr} es de $(2,23 \pm 0,45) \cdot 10^{-8} \text{ A/cm}^2$. Para potenciales mayores de 154 mV el material se pasiva manteniendo una intensidad $i_p = 3,41 \cdot 10^{-7} \text{ A/cm}^2$ prácticamente constante en el intervalo de potenciales desde 154 a 1007 mV (potencial de transpasivación).

En la figura 3.22 aunque no se puede observar fácilmente, aparecen dos pequeños picos de intensidad para los potenciales de 138 mV y 235 mV, en los que la capa se rompe [58], aunque casi instantáneamente se vuelve a repasar [62], sin que la i_p sufra ninguna modificación, indicando la facilidad que tiene el metal para pasivarse.

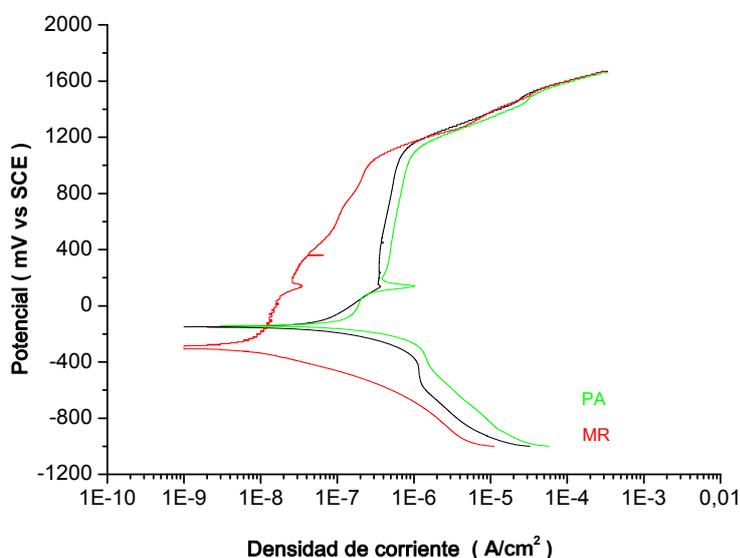


Figura 3.22.- Curvas de polarización del material pulido finalizado con dispersión de polvo de diamante comparada con el pulido alúmina y material recibido.

De nuevo aunque la densidad de corrosión es mayor que en el caso del material recibido, la mejora del potencial de corrosión y el hecho de que el material pase casi instantáneamente al estado pasivo y permanezca en él

durante un amplio rango de potenciales (~ 1000 mV), le proporciona una buena resistencia a la corrosión. Todo ello a pesar de que la capa de TiO_2 formada es muy fina $1,7 \pm 0,2$ nm, por lo que ésta debe ser muy homogénea para poder proteger al material.

3.1.6.6. Pre-tratamiento por pulido mecánico finalizado con dispersión de polvo de diamante y posterior tratamiento hidrotermal (PDTH)

La figura 3.23 muestra las curvas de polarización para el material recibido sometido a un pre-tratamiento doble PDTH (ver apartado 2.1.2.6). Los valores obtenidos en ella son $E_{\text{corr}} = -145,6 \pm 30,3$ mV e $i_{\text{corr}} = (7,9 \pm 0,46) \cdot 10^{-9}$ A/cm². También se observa que el material se pasiva para potenciales comprendidos entre 352 y 1056 mV con una intensidad $i_p = 5,41 \cdot 10^{-7}$ A/cm².

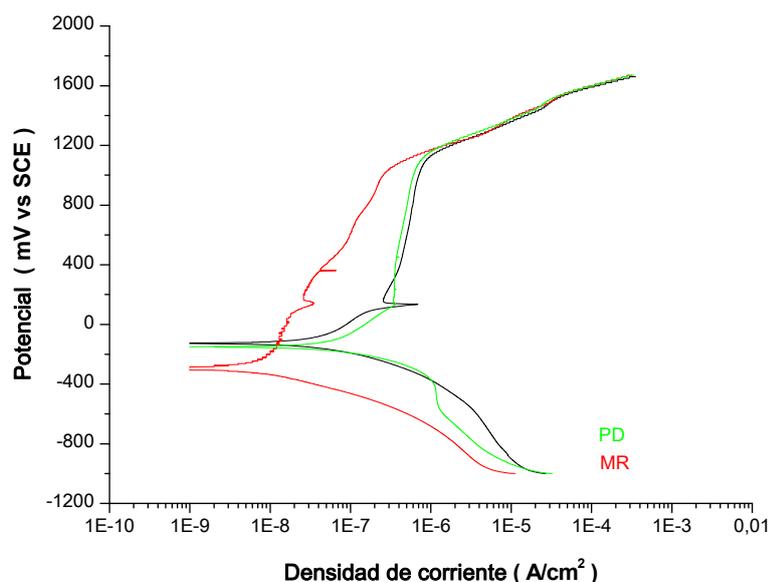


Figura 3.23.- Curvas de polarización del material PDTH. Comparadas con el pulido diamante y el material recibido

En la misma figura se puede apreciar también que el tratamiento hidrotermal sobre sustrato pulido diamante que genera un espesor final de capa TiO_2 de 10 ± 1 nm no modifica prácticamente nada la resistencia del sustrato pulido a diamante que presenta un espesor de la capa de $1,7 \pm 0,2$ nm. Esto significaría que si realmente la capa de TiO_2 es lo suficientemente homogénea, el espesor no debería ser el parámetro más

relevante en la resistencia a la corrosión. En la curva de polarización también se observa que el tratamiento hidrotérmal provoca que el material no pase directamente a estado pasivo ya que existe un pico de intensidad a 133 mV que se recupera cuando el material empieza a pasivarse hasta que alcanza la intensidad de pasivación i_p .

3.1.6.7. Pre-tratamiento por pulido mecánico finalizado con dispersión de polvo de diamante y posterior oxidación química (PDOQ)

La figura 3.24 muestra las curvas de polarización para el material recibido sometido a un pre-tratamiento de PDOQ (ver apartado 2.1.2.7), con un potencial de corrosión, el mayor de todos los casos, $E_{\text{corr}} = 55 \pm 10$ mV e i_{corr} es de $(3,81 \pm 0,5) \cdot 10^{-9}$ A/cm². El aumento en el potencial de corrosión, en este caso, podría deberse al aumento en el espesor de TiO₂ que ha aumentado pasando de 1,6 a 16 nm cuando se oxida químicamente el material previamente pulido. También se observa que el material se pasiva con una intensidad $i_p = 6,26 \cdot 10^{-7}$ A/cm² para potenciales comprendidos entre 533 y 1160 mV. El potencial de transpasivación es por tanto mayor que el del material con el pulido a diamante únicamente.

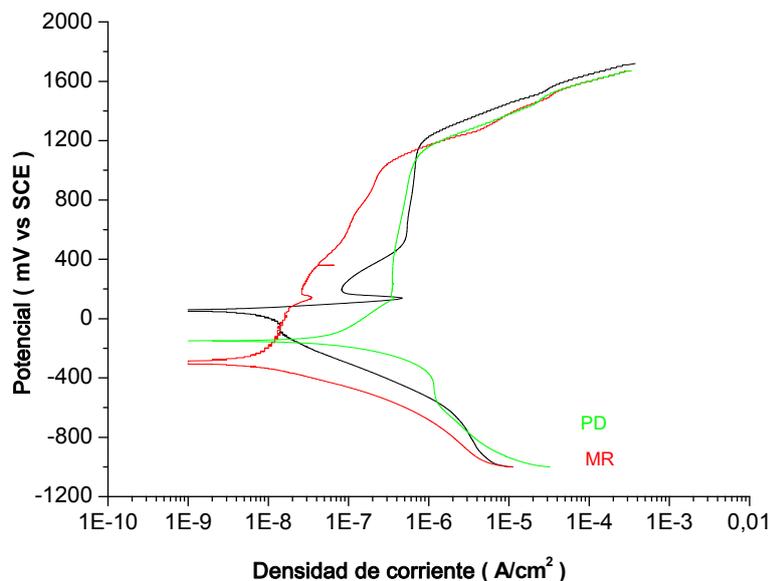


Figura 3.24.- Curvas de polarización del material PDOQ comparadas con el pulido diamante y el material recibido.

También se deduce de la figura que la oxidación química hace que el material no se pasive directamente ya que existe un pico de intensidad a 133 mV muy marcado cuyo significado ya se ha comentado previamente.

3.1.6.8. Pre-tratamiento hidrotérmal seguido por pulido mecánico finalizado con dispersión de polvo de diamante (THPD)

Este doble pre-tratamiento produce un potencial de corrosión $E_{\text{corr}} = -87,5 \pm 32,5$ mV y una $i_{\text{corr}} = (1,81 \pm 0,42) \cdot 10^{-8}$ A/cm². También se observa que el material se pasiva para potenciales comprendidos entre 151 y 1031 mV con una intensidad $i_p = 4,91 \cdot 10^{-7}$ A/cm².

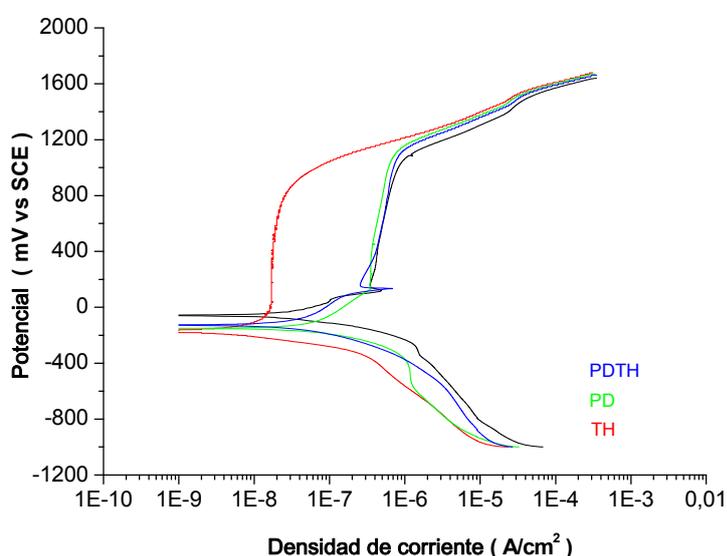


Figura 3.25.- Curvas de polarización del material THPD comparadas con el pulido diamante y el tratamiento hidrotérmal.

La figura 3.25 muestra un comportamiento similar entre la muestra pulida a diamante (PD), la que previamente al pulido se ha tratado hidrotérmicamente (THPD) y la pulida a diamante con posterior tratamiento hidrotérmal (PDTH) con un ligero incremento en el potencial de corrosión para la lámina PDTH. La lámina THPD tiene un espesor de capa de TiO₂ de 10 nm que es el mismo que la de PDTH. Aunque todas ellas aumentan ligeramente el potencial de corrosión del material, no han mejorado la i_p del material TH que sigue siendo varios órdenes de magnitud más pequeña. También se observa que existe el pico de intensidad a 133 mV en el que el material comienza a formarse la capa

de pasivación y alcanzar la i_p . En este caso, este pico de intensidad es menos acentuado que en el caso del PDTH acercándose de esta manera al comportamiento de la lámina PD. El potencial en el que la capa de pasivación de la lámina THPD se rompe es ligeramente inferior a las otras dos muestras, posiblemente debido a que existe alguna imperfección en la capa de TiO_2 producida por el pulido final.

3.1.6.9. Pre-tratamiento de oxidación química seguido por pulido mecánico finalizado con dispersión de polvo de diamante (OQPD)

La figura 3.26 muestra las curvas de polarización para el material recibido sometido a un pre-tratamiento de OQPD (apartado 2.1.2.9). En ella se observa un potencial de corrosión $E_{corr} = -56 \pm 38$ mV y una densidad de corrosión $i_{corr} = (1,66 \pm 0,44) \cdot 10^{-8}$ A/cm². También se observa que el material se pasiva para potenciales comprendidos entre 149 y 1070 mV con una intensidad $i_p = 4,56 \cdot 10^{-7}$ A/cm².

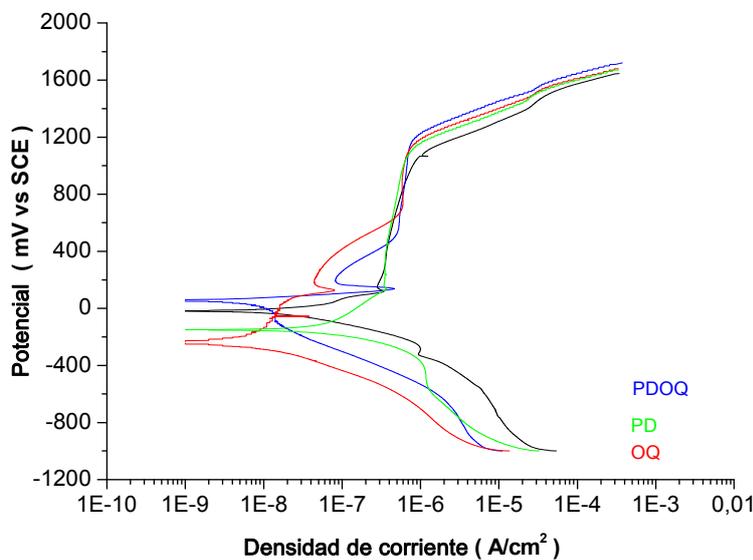


Figura 3.26.- Curvas de polarización del material OQPD comparadas con pulido diamante, oxidación química y pulido previo a la oxidación química.

Los resultados indican un comportamiento similar entre la muestra pulida diamante (PD) y aquella que previamente al pulido fue oxidada químicamente (OQPD) y distinto a la pulida diamante y su posterior oxidación química (PDOQ). En ambos casos aumentan el potencial de corrosión de la lámina PD,

aunque el potencial de la que finalmente se oxidó químicamente (PDOQ) es ligeramente mayor que la que se pulió después de oxidarse químicamente (OQPD) al contrario de lo que ocurría en el caso del tratamiento hidrotermal donde el mejor resultado era para la muestra pulida después del tratamiento hidrotermal (THPD). Esta mejoría respecto al comportamiento frente a la corrosión estaría avalado por la diferencia observada por XPS entre el espesor de la capa de TiO_2 de ambos materiales, siendo la lámina OQPD de 5 nm frente a la de 16 nm de PDOQ. También se observa que existe el pico de intensidad a 133 mV. En este caso, este pico de intensidad es bastante menos acentuado que en el caso del PDOQ acercándose de esta manera al comportamiento de la lámina PD y formando de esta manera directamente una capa pasiva resistente a la corrosión. El potencial en el que la capa de pasivación se rompe para la lámina OQPD es ligeramente más pequeño que para las otras dos, al igual que ocurría en el tratamiento hidrotermal, por lo que es posible que debido al PD exista alguna imperfección en la capa de TiO_2 , como ya se ha comentado anteriormente. En este caso la diferencia en el voltaje de transpasivación de la lámina PDOQ es mayor que la OQPD.

3.1.6.10. Resumen de los ensayos de corrosión sobre sustrato de NiTi

A modo de resumen, en la tabla 3.9 se comparan todos los resultados obtenidos en los distintos ensayos de corrosión para el NiTi. Se puede observar que el potencial sobre el cual se inicia la corrosión por picadura o potencial de transpasivación, está relativamente próximo en todas las muestras ensayadas, (1100 ± 150 mV). La intensidad de corrosión, que indica la velocidad a la que se produce la corrosión, también es similar para todos aquellos ensayos, excepto los que han sido únicamente pulidos, que han aumentado un orden de magnitud. Esto se puede explicar como resultado de la eliminación mediante el pulido de la capa de pasivación de TiO_2 o incluso la introducción de algún defecto en la superficie y que implica un transporte de masa más rápido y una mayor velocidad de corrosión.

Como se ha podido ver en las curvas de polarización, mientras que la mayoría de los tratamientos alcanzan la formación de una capa de pasivación a

intensidad de corrosión prácticamente constante, el material recibido muestra un incremento gradual de dicha intensidad de corrosión lo que indica que no existe o es muy débil la capa de pasivación.

Los materiales que fueron sometidos a oxidación química, tanto el material recibido como el previamente pulido, también muestran ese rango de potenciales en los que la intensidad de corrosión es constante aunque este rango, y en particular el potencial de transpasivación, se producen a potenciales mayores. Este efecto es posiblemente debido a que la oxidación química disuelve preferentemente el Ni de la superficie por lo que la cantidad de óxidos de níquel disminuye. Estos óxidos sí están presentes en los demás tratamientos, pudiendo contribuir a la formación de la capa pasiva del sustrato en ese rango de potenciales más bajos. Milosěv y cols. [28] hablan de la formación de una capa pasiva formada por los óxidos de níquel Ni_2O_3 y NiO sobre el sustrato de Ni puro y que protege al núcleo en un rango de potenciales bajos desde el potencial de corrosión $E_c = -260$ mV hasta el $E_b = +200$ mV a $pH = 7.5$. Este comportamiento podría concordar con nuestros resultados, aunque teniendo en cuenta que nuestro material es Nitinol, que parte de un potencial de corrosión mayor y donde el TiO_2 protegería a los óxidos de Ni de la corrosión.

Todos los tratamientos han aumentado el potencial de corrosión del material recibido, en especial aquellos sustratos que fueron pulidos y a continuación fueron sometidos a oxidación química. También se disminuyó de manera considerable el valor de la intensidad de corrosión en aquellos sustratos que fueron sometidos a tratamiento hidrotérmico, donde la intensidad de corrosión es aproximadamente un orden de magnitud inferior a aquellos sustratos que fueron pulidos con diamante y con alúmina y entre tres o cuatro veces menor que la del material recibido. Dado que el potencial de corrosión y la intensidad de corrosión se usan como indicadores de la resistencia a la corrosión estos resultados nos indicarían la contribución positiva de los pre-tratamientos y en particular el hidrotérmico.

Como se comentó en el apartado 3.1.4. los tratamientos también aumentaron el ángulo de contacto de la superficie, de tal manera que cuanto mayor es el ángulo mayor es la hidrofobicidad de la superficie y por lo tanto mayor resistencia a la corrosión. Esto se ajusta a los resultados obtenidos en este trabajo a excepción del tratamiento de OQ tal y como se muestra en la figura 3.27.

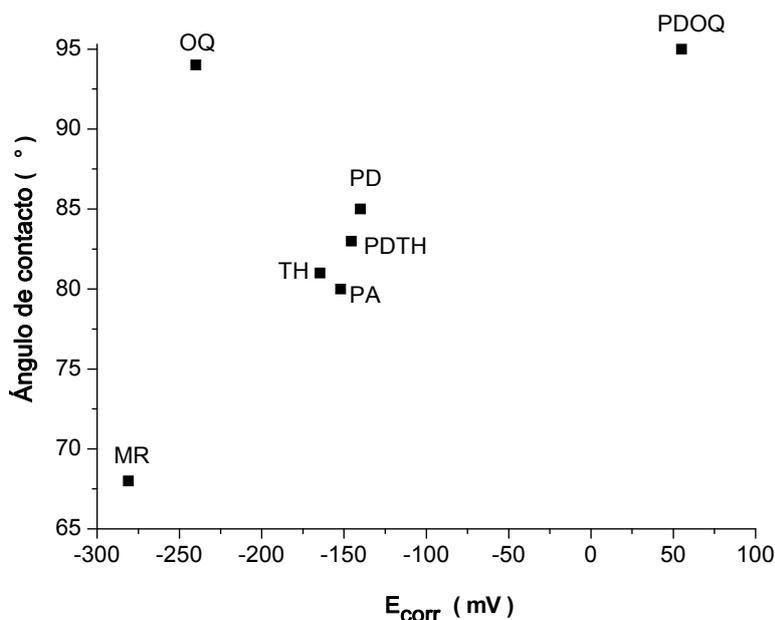


Figura 3.27.- Variación del ángulo de contacto frente al potencial de corrosión.

Si se toma como referencia la intensidad de pasivación (i_p), en la que el material está en estado pasivo y por lo tanto está protegido, el tratamiento hidrotermal es también el que consigue una intensidad de pasivación menor y un rango de potenciales más amplio para dicha intensidad de pasivación. Estos resultados se relacionarían con dos aspectos: 1) el tratamiento hidrotermal es el que ha conseguido una capa de TiO_2 más gruesa de 20 ± 10 nm y 2) la existencia de óxidos de níquel que influirían en el aumento de la resistencia a la corrosión, ver tabla 3.6.

Tabla 3.9.- Tabla resumen de las medidas de corrosión para las distintas superficies del Nitinol

Tratamiento superficial	Potencial de corrosión E_c (mV)	Densidad de corriente (A/cm ²)	Intensidad de pasivación (A/cm ²)	Potencia de transpasivación E_b (mV)
MR	-281 ± 21	$(4,29 \pm 0,38) \cdot 10^{-9}$	No se alcanza	1064 ± 18
PD	-140 ± 12	$(2,23 \pm 0,45) \cdot 10^{-8}$	$(4,54 \pm 0,39) \cdot 10^{-7}$	1141 ± 1
OQ	-240 ± 38	$(4,03 \pm 0,41) \cdot 10^{-9}$	$(5,41 \pm 0,5) \cdot 10^{-7}$	1159 ± 16
TH	-164,6 ± 10,7	$(1,06 \pm 0,50) \cdot 10^{-9}$	$(2,10 \pm 0,32) \cdot 10^{-8}$	991 ± 11
PA	-152 ± 2,3	$(2,76 \pm 0,37) \cdot 10^{-8}$	$(5,35 \pm 0,54) \cdot 10^{-7}$	1142 ± 1
PDTH	-145,6 ± 30,3	$(7,9 \pm 0,46) \cdot 10^{-9}$	$(4,88 \pm 0,5) \cdot 10^{-7}$	1193 ± 50
PDOQ	55 ± 10	$(3,81 \pm 0,5) \cdot 10^{-9}$	$(6,14 \pm 0,48) \cdot 10^{-7}$	1255 ± 8
THPD	-87,5 ± 32,5	$(1,81 \pm 0,42) \cdot 10^{-8}$	$(8 \pm 1) \cdot 10^{-7}$	1031 ± 105
OQPD	-56 ± 38	$(1,66 \pm 0,44) \cdot 10^{-8}$	$(4,27 \pm 0,1) \cdot 10^{-7}$	1078 ± 15

3.1.6.11. Material recibido de acero poroso

Uno de los métodos propuestos para la liberación de fármacos es el recubrimiento de la superficie de Nitinol con microesferas mesoporosas y material zeolítico indicados en el apartado 2.1.1.3. Por eso, el comportamiento frente a la corrosión de todos los sustratos fue estudiado. Otro método de liberación de fármaco desde materiales porosos propuesto en este trabajo, es la utilización de un tornillo hueco como recipiente volumétrico del material poroso cargado de fármaco. El material elegido para dicho dispositivo fue el acero inoxidable poroso 316 L. Por esta razón se analizó a continuación la resistencia a corrosión de este material.

La figura 3.28 muestra las curvas de polarización para el acero poroso 316 L. Antes del ensayo de corrosión, una de las caras del material ha sido recubierta con oro para evitar que la disolución de Hanks se introduzca por los poros del material y ponga en contacto químico otras partes de la celda electroquímica dando por tanto, unas medidas de corrosión erróneas. Los resultados muestran un potencial de corrosión, $E_{corr} = -314,7$ mV y una intensidad de corrosión i_{corr} de $(3,51 \pm 0,46) \cdot 10^{-6}$ A/cm². Aunque no parece que

este tipo de acero poroso forme una capa homogénea de pasivación, la velocidad de corrosión tampoco parece crecer muy rápidamente en el intervalo de potenciales comprendido entre - 207 y 307 mV, la intensidad de pasivación si situaría en torno a $i_p = (1,21 \pm 0,46) \cdot 10^{-4} \text{ A/cm}^2$, lo que implica un transporte de masa más rápido y una alta velocidad de corrosión. Esto podría ser debido a que al ser un material poroso, la superficie expuesta a la corrosión es muy alta. El potencial de transpasivación se situaría en torno a los $318 \pm 12 \text{ mV}$.

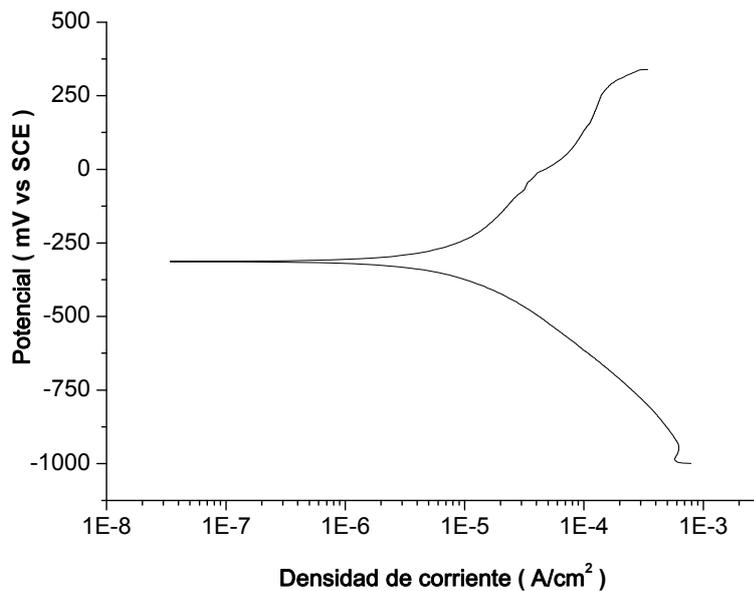


Figura 3.28.- Curvas de polarización del acero poroso.

Los valores para el potencial de corrosión encontrados en la bibliografía para superficies de acero inoxidable 316 L pulidas con finalización en pulido con paño de diamante y en disolución de Hanks a 37 °C como medio corrosivo se sitúan en el intervalo de potenciales: $E_{\text{corr}} = (- 292 , - 211) \text{ mV}$ e $i_{\text{corr}} = (1,3 \cdot 10^{-6}, 1,5 \cdot 10^{-6}) \text{ A/cm}^2$ [65,66]. La diferencia con los valores obtenidos para el acero poroso no implica un empeoramiento del comportamiento a la corrosión del mismo. Esto es así porque los resultados están calculados con el valor del área aparente y no la real. Del mismo modo que Aparicio y cols. [63] hablan de una mayor área efectiva cuanto mayor es la rugosidad en nuestro caso la porosidad del material implica una mayor área efectiva de paso de corriente por la muestra. Por lo tanto, si los valores de densidad de corriente estuvieran corregidos, calculándolos con el valor de su área efectiva en lugar

de con su área aparente, serían inferiores a los deducidos en las curvas [63] y estaría próximos al acero 316 L no poroso.

3.1.7. Lixiviación de níquel

Como ya se ha comentado en el apartado 1.2.1, el Nitinol es un candidato excelente para ser utilizado como un material para fabricar implantes como en arcos de ortodoncias, stents, filtros de vena cava, grapas, etc. debido a sus características de memoria de forma, superelasticidad y biocompatibilidad [67,68]. Sin embargo, un potencial problema de este material para la fabricación de implantes es la lixiviación de níquel ya que puede provocar alergias [67,69] ya que esta liberación se produce durante el proceso de corrosión en ambientes fisiológicos [67]. Mediante estudios *in vitro* algunos autores [70,71] han encontrado que arcos de alambre de nitinol procesados por el fabricante Nitinol-Unitek Corp. (Monrovia, California), con una longitud de 12,5 cm y una sección de 0,043 x 0,063 cm², han lixiviado una media de 13,05 µg de Ni/día en saliva artificial a 37 °C. Sin embargo, esta cantidad está lejos de lo que se estima para la ingesta por término medio de níquel en la dieta que es de 200-300 µg/día [72]. Por otro lado, Bishara y cols. [73] utilizan arcos de ortodoncia de Nitinol, en su estado "recibido", para demostrar que la concentración normal en sangre, que está comprendida entre 2,4 ± 0,5 ng/mL and 30 ± 19 ng/mL, no se ve afectada en pacientes con arcos de ortodoncia durante los primeros 5 meses. Respecto a los stents de NiTi, el efecto real de la lixiviación de Ni desde un stent situado en una pared arterial no está todavía completamente resuelto [74]. Estudios en pacientes, con reacciones alérgicas al Ni demuestran que estos tienen una frecuencia mayor de padecer restenosis en un stent coronario que los pacientes sin hipersensibilidad al níquel [75]. Estudios *in vivo* [76,77] que pretenden evaluar la biocompatibilidad del Nitinol comparado con la del acero inoxidable y la del titanio a través de los efectos tóxicos y la disminución en la proliferación celular, encuentran que no existen efectos citotóxicos a largo plazo del Nitinol en los cultivos celulares a pesar de la elevada lixiviación inicial de Ni.

En el presente trabajo, se ha llevado a cabo el estudio de la cantidad de níquel lixiviado durante 30 días de todos los tratamientos superficiales que se han realizado, incluyendo aquellos que conllevan un recubrimiento de microesferas mesoporosas y cristales de silicalita-1. Para dicho estudio se sumergen láminas de 15 x 3 x 1 mm³ en 10 mL de SBF en viales sellados para evitar la evaporación y se guardan en una estufa a 37 °C. El fluido biológico (SBF) se renovó por dos veces, a los 5 y a los 15 días y se comprobó que no hubiera pérdida de fluido biológico. La cantidad de níquel lixiviado de todas las láminas sumergidas en SBF durante 30 días se muestra en la figura 3.29.

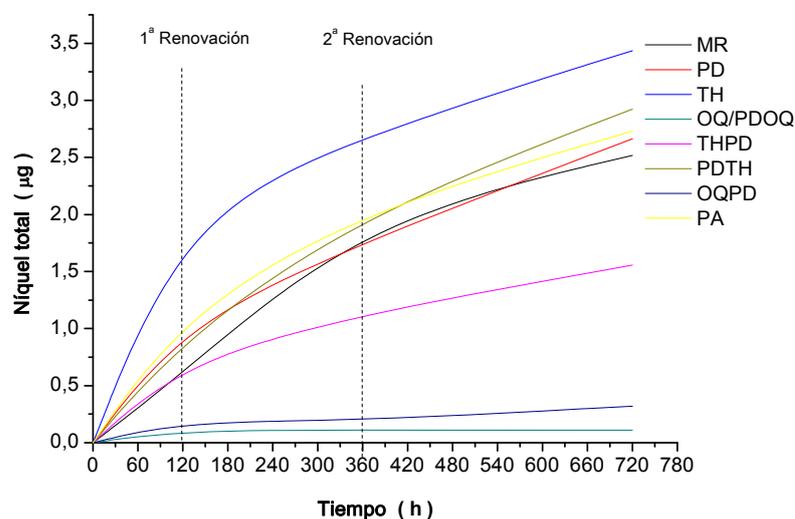


Figura 3.29.- Curvas de lixiviación de níquel para las láminas de 15x3x1mm³.

De la gráfica se deduce que cuatro de los materiales, material recibido (MR), pulido a diamante (PD), pulido alúmina (PA) y tratamiento hidrotermal después del pulido (PDTH), siguen una evolución similar con el tiempo alcanzando una lixiviación de Ni alrededor de 2,5 µg después de 700 h y dos renovaciones de fluido biológico.

Cabe destacar que las tres láminas sujetas a oxidación química, la que está sin pulir (OQ), la previamente pulida (PDOQ) y la que está pulida después de la oxidación (OQPD), presentan un comportamiento interesante ya que, en ninguna de las dos primeras se detecta lixiviación de níquel incluso después de 700 h de exposición a SBF (se han representado juntas y con valores de

lixiviación de níquel igual al mínimo valor detectable). La OQPD presenta también una lixiviación de níquel muy baja, apenas por encima del mínimo valor detectable, posiblemente debido a que con el pulido se ha dañado la capa homogénea de pasivación de 16 ± 1 nm o 19 ± 4 nm según el criterio elegido (ver tabla 3.6).

Finalmente, se puede observar el comportamiento dispar de las láminas que han sido sometidas en algún momento a un tratamiento hidrotermal. El tratamiento hidrotermal directo presenta la mayor lixiviación de níquel ($\sim 3,25$ μg después de 700 h) que es debido principalmente al fuerte ritmo inicial de lixiviación que coincide con las renovaciones de SBF. A partir de ahí el ritmo de lixiviación sigue la tendencia que aparece en los otros ensayos. Sin embargo si el material se pule primero y luego se le da un tratamiento hidrotermal (PDTH), se consigue reducir su velocidad de lixiviación de níquel durante esos dos primeros periodos. Si el orden de estos dos tratamientos cambia (THPD) se consigue reducir, prácticamente a menos de la mitad la cantidad de níquel lixiviada ($\sim 1,25$ μg después de 700 h). La tabla 3.10 muestran todos los datos que pudieran influir en la lixiviación de níquel. La rugosidad podría ser un factor a tener en cuenta a la hora de la lixiviación de níquel ya que cuanto más rugosa es una superficie mayor área efectiva existe frente a la corrosión lo que explicaría la elevada lixiviación de níquel en la muestra tratada hidrotermalmente. Sin embargo, a rugosidades similares como en el caso de los pre-tratamientos PDTH y THPD, el mayor potencial de corrosión del THPD podría contribuir a una reducción significativa en la lixiviación de níquel. Por otro lado, la relación Ni/Ti en superficie parece que no está relacionada con la lixiviación, puesto que una disminución de la relación Ni/Ti en superficie no implica una disminución de la lixiviación, sino más bien que la presencia de Ni_2O_3 en superficie favorecería la resistencia a la corrosión y el aumento del potencial de corrosión.

Tabla 3.10.- Resultados característicos de los distintos tratamientos

Trat. Superf.	E _c (mV)	R _a (nm)	TiO ₂ (nm)	(Ni/Ti) _s	Lixiviación Ni (µg)
MR	- 281 ± 21	665 - 886	8 ± 5	0,08~0,18	2,51
PA	- 152 ± 2,3	20 - 35	1,6 ± 0,2	0,25~0,45	2,73
PD	- 40 ± 12	10 - 18	1,7 ± 0,2	0,20~0,30	2,66
OQ	- 240 ± 38	608 - 701	16 ± 2	0,09~0,36	n.d.
TH	- 164,6 ± 10,7	526 - 680	20 ± 10	0,08~0,18	3,44
PDTH	- 145,6 ± 30,3	7 - 14	10 ± 1	0,32	2,93
THPD	- 87,5 ± 32,5	10 - 18	10	0,30~0,39	1,55
PDOQ	55 ± 10	10 - 18	16 ± 1	0,20	n.d.
OQPD	- 56 ± 38	10 - 18	5	0,68~0,70	0,32

3.1.7.1. Estudio de la influencia del área lateral o canto en la lixiviación de níquel

Los tratamientos de pulido mecánico, acabado en diamante o en alúmina, sólo se llevaron a cabo en las dos partes más anchas de las láminas superficie superior e inferior (15 x 3 mm²), ya que en las partes más estrechas, los cantos de las láminas (3 x 1 mm²), eran técnicamente más complicadas de pulir. Mientras que los demás tratamientos afectan al total de la pieza.

Esto debería tener una influencia directa sobre los resultados, ya que el proceso de cortado por electroerosión usado para obtener las láminas, expone superficie “fresca” del Nitinol, donde la pasivación no ha tenido lugar, al contacto con SBF y por lo tanto a una mayor potencial lixiviación de níquel. Sin embargo, como en la literatura se encuentran procesos de cortado similares y que son utilizados en la industria como acabados de piezas para la industria aeroespacial, automóvil o componentes quirúrgicos [78], se encontró interesante preparar las láminas de esta manera. Este proceso se basa en la eliminación de material por medio de descargas eléctricas entre el electrodo y la pieza de trabajo en presencia de un fluido eléctrico que generalmente es agua. No existe contacto directo entre la pieza y el electrodo de trabajo eliminando tensiones mecánicas y los problemas asociados a las vibraciones durante el mecanizado [78,79].

Para evaluar la cantidad lixiviada que se puede atribuir a los cantos de las láminas, se hicieron dos tipos de ensayos diferentes:

- Se utilizaron piezas similares a las recibidas, pero con distinta relación de área lateral/área total y se sumergieron en SBF durante un periodo de 30 días.
- Las láminas de Nitinol fueron cortadas por electroerosión y se le realizaron análisis de XPS para encontrar la relación Ni/Ti en la zona del canto (sin pasivar).

En el primer ensayo, se varió la relación de proporción entre el área total y el área de los cantos pero siempre manteniendo la misma relación entre área total sumergida y el volumen de SBF. Partiendo de una pieza cuya relación entre el área del canto o lateral y el área total ($A_C/A_T = 0,286$ y $V_{SBF} = 10$ mL) para las piezas de dimensiones $15 \times 3 \times 1$ mm³, se recortaron piezas cuadradas de espesor 1 mm y de lado 5 mm ($A_C/A_T = 0,286$ sumergidas en $V_{SBF} = 5,6$ mL), 10 mm ($A_C/A_T = 0,167$ sumergidas en $V_{SBF} = 19$ mL), 20 mm ($A_C/A_T = 0,091$ sumergidas en $V_{SBF} = 69,9$ mL) y 30 mm ($A_C/A_T = 0,063$ sumergidas en $V_{SBF} = 152,4$ mL) y también se realizaron los mismos experimentos con alambres de Nitinol, tanto los recibidos como los sometidos a los tratamientos indicados anteriormente para las láminas. Para este fin, las longitudes de los alambres se calcularon para obtener áreas de 126 mm², como las superficies totales correspondientes con las láminas de $15 \times 3 \times 1$ mm³. Los resultados que se muestran en la figura 3.30 muestra claramente una correlación lineal ($R=0,92$) entre la proporción del canto y la cantidad de níquel lixiviado. Cuanto mayor es la proporción del canto o área lateral en las piezas, mayor es la cantidad de níquel lixiviado. Esto evidencia que la presencia de un área sometida a electroerosión, que no ha recibido ningún tratamiento superficial y que por lo tanto expone a la corrosión el núcleo del material, provoca una mayor contribución a la lixiviación de Ni. Comparando dos piezas con geometrías distintas pero con la misma proporción de $A_C/A_T = 0,286$ como son las láminas de $15 \times 3 \times 1$ mm³ y las de $5 \times 5 \times 1$ mm³ se observa que la lixiviación de níquel es la misma 0,060 y 0,061 la segunda. Lo

que viene a indicar que no es tanto la geometría de la pieza sino las superficies de éstas que no reciben un tratamiento adecuado lo que aumenta la lixiviación de níquel. En las piezas que habían sido recubiertas (con cinta aislante, con parafina y otra sellada con laca de uñas, (apartado 2.1.4.6.2) en las que no existía contacto entre la superficie del material y el SBF, no se detectó lixiviación de níquel en ningún momento.

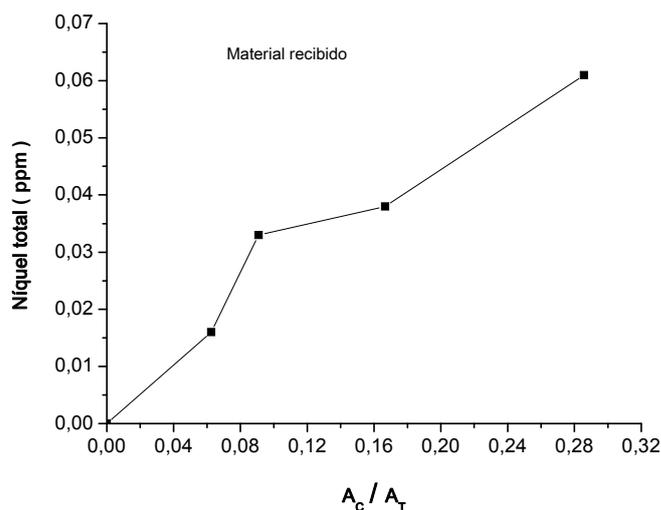


Figura 3.30.- Curvas de lixiviación de níquel para las piezas con distinta proporción de área lateral frente a área total.

En cuanto a los alambres, cuya área del canto es despreciable frente al área total, se realizaron tres ensayos distintos para cada uno de los siguientes tratamientos: recibido, pre-tratamiento hidrotérmico y pre-tratamiento de oxidación química. Para cada uno de los distintos tratamientos se midió la cantidad de níquel lixiviada a los 5, 15 y 30 días. Los valores de lixiviación de níquel obtenidos para todos los ensayos realizados (27 ensayos en total), estuvieron por debajo del mínimo valor detectable (0,011 mg/mL) después de 30 días sumergidos en SBF. Por lo tanto, estos resultados concuerdan con lo expuesto anteriormente. Los mismos alambres se sumergieron por un periodo de otros 3 meses pero incluso en este caso la concentración de Ni permaneció por debajo de los mínimos detectables independientemente de los tratamientos. Estos resultados están de acuerdo con los obtenidos por Shabalovskaya y cols. [80] donde muestra como los alambres de Nitinol de 2,65 cm² sumergidos en una disolución salina por encima de los 6 meses

lixivian una concentración de Ni por debajo de 0,028 mg/L. Sólo en uno de los alambres observó una concentración de 1,8 mg/L, que fue atribuido a falta de la capa de pasivación en una zona con presencia de grietas. En nuestro caso, las imágenes SEM tomadas de los alambres después de 4 meses de inmersión en SBF no revelan la presencia de roturas o grietas macroscópicas.

Así, que mientras la superficie del material recibido presenta una capa natural de pasivación (TiO_2) con una relación Ni/Ti = 0,07~0,25, las áreas laterales o cantos, expuestas a la electroerosión, tiene una relación Ni/Ti \approx 0,6, muy superior a la obtenida en la superficie, lo que indica una composición rica en Ni, cercana a la del núcleo y de ahí su alta contribución a la lixiviación.

3.1.8. Resumen del comportamiento general (biocompatibilidad)

De los resultados la lixiviación de níquel, que está relacionada con los procesos de corrosión, se puede inferir que el tratamiento que presenta un mayor potencial de corrosión es el que menos níquel ha lixiviado (PDOQ), que indica una mayor resistencia a la corrosión. A la vista de la figura 3.31 conforme aumenta el potencial de corrosión, la lixiviación de níquel disminuye. Tan sólo la excepción del pre-tratamiento de OQ cuyo potencial de corrosión es de - 240 mV, consigue eliminar la lixiviación de níquel debido seguramente a que la oxidación con HNO_3 disuelve el Ni preferencialmente durante el tratamiento, evitando que se libere posteriormente.

Por otro lado, los resultados obtenidos indican que un mayor espesor de capa de TiO_2 conlleva una disminución de la lixiviación de níquel, a excepción del que TH es el tratamiento que mayor capa de óxidos genera (tabla 3.6) y donde mayor cantidad de níquel se ha lixiviado. La figura 3.32 muestra la relación entre el espesor de capa de TiO_2 y la cantidad de níquel lixiviada.

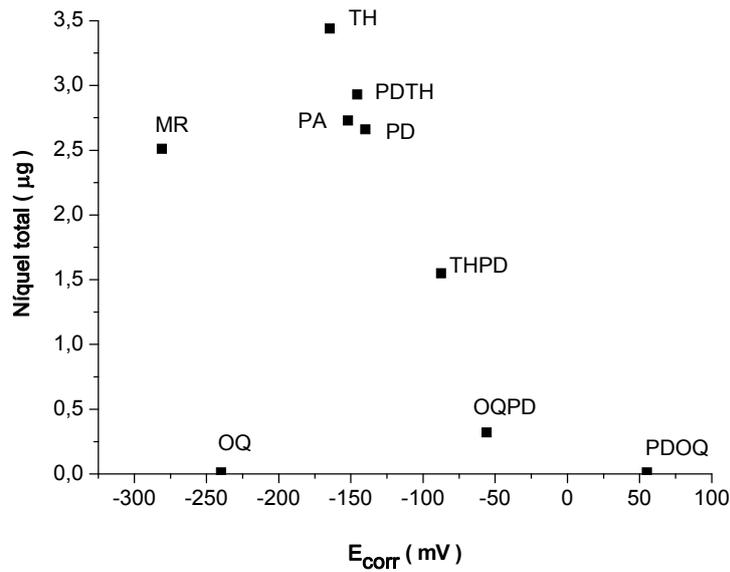


Figura 3.31.- Influencia del potencial de corrosión en la lixiviación de níquel.

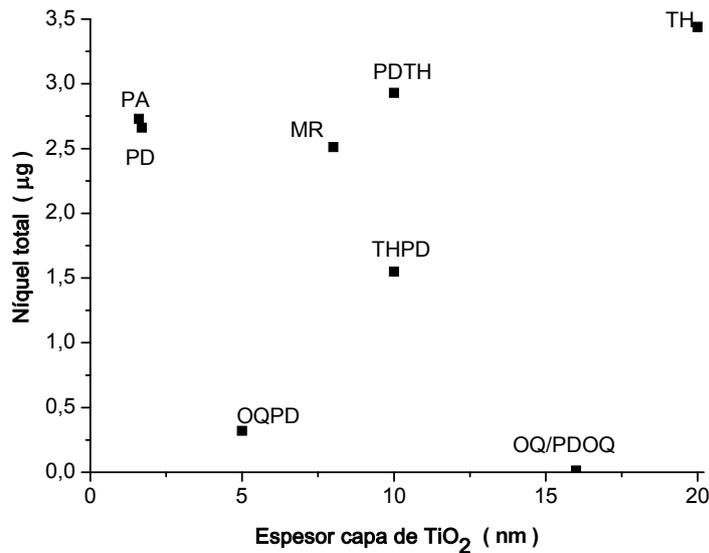


Figura 3.32.- Influencia del espesor de la capa de TiO_2 en la lixiviación de níquel.

Finalmente, aunque los datos de lixiviación están fuertemente condicionados por el área lateral, el espesor de capa y el potencial de corrosión son dos parámetros cuyos valores permiten predecir el comportamiento del material respecto a la lixiviación de níquel y evaluar de esta manera el comportamiento del material frente a la resistencia a la corrosión.

3.2. Bibliografía

- [1] D.F. Willians, editors. Definitions in Biomaterials proceeding of a Consensus Conference of the European Society for Biomaterials. Chester, Progress en Biomedical Engineering. Ed. Elsevier, . Amsterdam (1987).
- [2] J. Pino, Tesis doctoral “Estudio nanométrico de biocompatibilidad y adhesividad celular a biomateriales utilizados en cirugía ortopédica”. (2008) 10-12.
- [3] M. Szycher. High Performance Biomaterials. Part. 2 Fundamental properties and test methods. Ed. Technomic Publishing Co, Pennsylvania (USA) (1991).
- [4] J. Black, Biological performance of materials. Fundamentals of Biocompatibility. 3rd Edition. (1999). Ed. Marcel Dekker, Inc.
- [5] <http://www.eurofins.es/>
- [6] T. Duerig, A. Pelton, D. Stöckel, Mater. Sci. and Eng. A273-275 (1999) 149.
- [7] B. O’Brien, W.M. Carroll, M.J. Kelly, Biomaterials 23 (2002) 1739.
- [8] S.A. Shabalovskaya, Bio-Med. Mater. Eng. 12 (2002) 69.
- [9] M. Morita, T. Hashimoto, K. Yamauchi, Y. Suto, T. Homma, Y. Kimura, Materials Transactions 48 (2007) 352.
- [10] K.Y. Chiu, M.H. Wong, F.T. Cheng, H.C. Man, Appl. Surf. Sci. 253 (2007) 6762.
- [11] Y.W. Gu, B.Y. Tay, C.S. Lim, M.S. Yong, Biomaterials 26 (2005) 6916.
- [12] M.F. Chen, X.J. Yang, Y. Liu, S.L. Zhu, Z.D. Cui, H.C. Man, Surf. Coat. Technol. 173 (2003) 229.
- [13] C.L. Chu, C.Y. Chung, P.K. Chu, Mater. Sci. Eng. A 417 (2006) 104.
- [14] Y.W. Gu, B.Y. Tay, C.S. Lim, M.S. Yong, Appl. Surf. Sci. 252 (2005) 2038.

- [15] G.S. Firstov, R.G. Vitchev, H. Kumar, B. Blanpain, J. Van Humbeeck, *Biomaterials* 23 (2002) 4863.
- [16] D.A. Armitage, D.M. Grant, *Mater. Sci. Eng. A349* (2003) 89.
- [17] D. Vojtěch, J. Fojt, P. Novák, *Surface & Coatings Technology* 204 (2010) 3895.
- [18] M.F. Chen, X.J. Yang, Y. Liu, S.L. Zhu, Z.D. Cui, H.C. Man, *Surf. Coat. Technol.* 173 (2003) 229.
- [19] D. Vojtech, L. Joska, J. Leitner, *Applied Surface Science* 254 (2008) 5664.
- [20] I. Milošev, B. Kapun, *Materials Science and Engineering C* 32 (2012) 1068.
- [21] S. Mändl, J.W. Gerlach, B. Rauschenbach, *Surface & Coatings Technology* 196 (2005) 293.
- [22] D. Tarniță, D. N. Tarniță, N. Bîzdoacă, I. Mîndrilă, M. vasilescu, 50 (2009) 15.
- [23] D. Tarniță, D. N. Tarniță, N. Bîzdoacă, I. Mîndrilă, M. vasilescu, 51 (2010) 315.
- [24] L.M. Pérez, M. Arruebo, S. Irusta, L. Gracia-Villa, J. Santamaría, J.A. Puértolas, *Microporous and Mesoporous Materials* 98 (2007) 292.
- [25] L.M. Pérez, L. Gracia-Villa, J.A. Puértolas, M. Arruebo, S. Irusta, , J. Santamaría, *J Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater.* 91B (2009) 337.
- [26] C.L. Chu, C.Y. Chung, P.K. Chu, *Materials Science and Engineering A417* (2006) 104.
- [27] P. Filip, J. Lausmaa, J. Musialek, K. Mazanec, *Biomaterials* 22 (2001) 2131
- [28] I. Milošev, B. Kapun, *Materials Science and Engineering C* 32 (2012) 1087.
- [29] Y.W. Gu, B.Y. Tay, C.S. Lim, M.S. Yong, *Appl. Surf. Sci.* 252 (2005) 2038.

- [30] L. Ponsonnet, V. Comte, A. Othmane, C. Lagneau, M. Charbonnier, M. Lissac, N. Jaffrezic, *Mater. Sci. Eng. C* 21 (2002) 157.
- [31] S. Shabalovskaya, J. Anderegg, J. Van Humbeeck, *Acta Biomater.* 4 (2008) 447.
- [32] G.S. Firstov, R.G. Vitchev, H. Kumar, B. Blanpain, J. Van Humbeeck, *Biomaterials* 23 (2002) 4863.
- [33] Z.D. Cui, H.C. Man, X.J. Yang, *Surf. Coat. Technol.* 192 (2005) 347.
- [34] K.Y. Chiu, M.H. Wong, F.T. Cheng, H.C. Man, *Appl. Surf. Sci.* 253 (2007) 6762.
- [35] G. Tepe, J. Schmehl, H.P. Wendel, S. Schaffner, S. Heller, M. Gianotti, C.D. Claussen, S.H. Duda, *Biomaterials* 27 (2006) 643.
- [36] L.M. Pérez, L. Gracia-Villa, J.A. Puértolas, M. Arruebo, S. Irusta, J. Santamaría, *J Biomed. Mater. Res. Part B: Appl Biomater* 91B (2009) 337.
- [37] P. Filip, J. Lausmaa, J. Musialek, K. Mazanec, *Biomaterials* 22 (2001) 2131.
- [38] D. Wever, A. Veldhuizen, J. Vries, H. Busscher, D. Uges, J. van Horn, *Biomaterials* 19 (1998) 761.
- [39] P. Jiang, J.F. Bertone, K.S. Hwang, V.L. Colvin, *Chem. Mater.* 11 (1999) 2132.
- [40] R. Wang, C. Chu, T. Hu, Y. Dong, C. Guo, X. Sheng, P. Lin, C. Chung, P. Chu, *App. Surf. Sci.* 253 (2007) 8507.
- [41] F.T. Cheng, P. Shi, G.K.H. Pang, M.H. Wong, H.C. Man, *J. Alloys Compounds* 438 (2007) 238.
- [42] J.P. Espinós, A. Fernández and A.R. González-Elipe, *Surface Science* 295 (1993) 402.

- [43] S. A. Shabalovskaya, D. Siegismund, E. Heurich, M. Rettenmayr, *Materials Science and Engineering C* 33 (2013) 127.
- [44] A. Shahryari, W. Kamal, S. Omanovic, *Materials Letters* 62 (2008) 3906.
- [45] L. Ponsonnet, K. Reybier, N. Jaffrezic, V. Comte, C. Lagneau, M. Lissac, C. Martelet, *Mater. Sci. Eng. C* 23 (2007) 551.
- [46] S. A. Shabalovskaya, D. Siegismund, E. Heurich, M. Rettenmayr, *Materials Science and Engineering C* 33 (2013) 127.
- [47] Y. Shen, G. Wang, L. Chen, H. Li, P. Yu, M. Bai, Q. Zhang, J. Lee, Q. Yu, *Acta Biomaterialia* 5 (2009) 3593.
- [48] S. Domingo, S. Puértolas, L. Gracia-Villa, M. Mainar, J. Usónn, J.A. Puértolas, *Bio-Med. Mater. Eng.* 15 (2005) 357.
- [49] Giovanni Talei Franzesi, *Desing of a novel anterior cruzate ligament prosthesis* (2006).
- [50] Z. Lekston, D. Stróż, M. Jędrusik-Pawłowska, *Journal of Materials Engineering and Performance* 21 (2012) 2650.
- [51] G. Rondelli, B. Vicentini, *Biomaterials* 23 (2002) 639.
- [52] N. Schiff, B. Grosogeat, M. Lissac, F. Dalard, *Biomaterials* 25 (2004) 4535.
- [53] A.G. Veldhuizen, D.J. Wever, J. De Vries, H.J. Busscher, D.R.A. Uges, J.R. Van Horn, *Biomaterials* 19 (1998) 761.
- [54] G. Rondelli, *Biomaterials* 17 (1996) 2003.
- [55] J.H. Sui, W. Cai, *Surface & Coatings Technology* 201 (2007) 5121.
- [56] X.J. Yan, D.Z. Yang, X.P. Liu, *Materials Characterization* 58 (2007) 623.
- [57] O. Cissé, O. Savadoga, M. Wu, L'H, Yahia, J. *Biomed. Mater. Res.* 61 (2002) 339.

- [58] Y.F. Zheng, B.L. Wang, J.G. Wang, C. Li, L.C. Zhao, *Materials Science and Engineering A* 438–440 (2006) 891.
- [59] X.L. Zhang, Zh.H. Jiang, Zh.P. Yao, Y. Song, Zh.D. Wu. *Corrosion Science* 51 (2009) 581.
- [60] S. L. de Assis, S. Wolyneć, I. Costa, *Electrochimica Acta* 51 (2006) 1815.
- [61] S.Y. Yu, J.R. Scully, *Corrosion* 53 (1997) 965.
- [62] R.A. Silva, M. Walls, B. Rondot, M. D. Belo, R. Guidoin, *Journal of materials science: materials in medicine* 13 (2002) 495.
- [63] C. Aparicio, D. Rodríguez, F.J. Gil, C. Fonseca, M. Barbosa, G. Nussbaum, A. García, J.A. Planell, *Biomecánica* 13 (1999) 21.
- [64] C. Trépanier, M. Tabrizian, L'H. Yahia, L. Biloduu, D.I. Piron, *J. Biomed. Mater. Res.* 43 (1998) 433.
- [65] C.D. Arrieta, J. Porcayo, V.M. Salinas, J.G. Chacón, J.G. González, *Suplemento de la Revista Latinoamericana de Metalurgia y Materiales S1* (2009) 7.
- [66] I.E.Castañeda, M.A. Neri, A. Martínez, J. G. Gonzalez, J. Uruchurtu, J. Colín, XXV Congreso de la Sociedad Mexicana de Electroquímica. 3rd MEETING OF THE MEXICAN SECTION ECS.
- [67] J.H. Sui, W. Cai, *Surface & Coatings Technology* 201 (2007) 5121.
- [68] Y.Q. Yang, H.C. Man, *Surface & Coatings Technology* 201 (2007) 6928.
- [69] S. Shabalovskaya, J. Anderegg, J.V. Humbeeck, *Acta Biomaterialia* 4 (2008) 447.
- [70] R.D. Barret, S.E. Bishara, , J.K. Quinn, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop.* 103 (1993) 8.
- [71] C.Trépanier, T.K.Leung, M.Tabrizian, L'H. Yahia, J.-F. Tanguay, D.L.Piron, L.Bilodeau, *J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater.)* 48 (1999) 165.

- [72] T. Dueig, A. Pelton, D. Stöckel, *Materials Science and Engineering A* 273-275 (1999) 149.
- [73] S. E. Bishara, R. D. Barrett, M. I. Selim, *Am. J. Orthod. Dentofac. Orthop* 103 (1993) 115.
- [74] J. M. Schmeihla, C. Harder, H. P. Wendel, C. D. Claussen, G. Tepe, *Cardiovascular Revascularization Medicine* 9 (2008) 255.
- [75] R. Köster, D. Vieluf, M. Kiehn, M. Sommerauer, J. Kähler, S. Baldus, T. Meinertz, C.W. Hamm, *Lancet* 356 (2000) 1895.
- [76] J. Ryhänen, E. Niemi, W. Serlo, E. Niemelä, P. Sandvik, H. Pernu, T. Salo, *J. Biomed. Mater. Res.* 35 (1997) 451.
- [77] J. Ryhänen, M. Kallioinen, J. Tuukkanen, J. Junila, E. Niemelä, P. Sandvik, W. Serlo, *J. Biomed. Mater. Res.* 41 (1998) 481.
- [78] N. M. Abbas, D. G. Solomon, Md. F. Bahari, *International Journal of Machine Tools & Manufacture* 47 (2007) 1214.
- [79] K.H. Ho, S.T. Newman, State of the art electrical discharge machining (EDM), *International Journal of Machine Tools & Manufacture* 43 (2003) 1287.
- [80] S.A Shabalovskaya, H. Tian, J.W. Anderegg, D.U. Schryvers, W.U. Carroll, J.V. Humbeeck, *Biomaterials* 30 (2009) 468.

4. ASPECTOS DE LA BIOCOMPATIBILIDAD DE LOS RECUBRIMIENTOS

Una vez estudiado el soporte, se pretende recubrir éste con materiales mesoporosos y zeolíticos. Estos pueden servir potencialmente como depósitos de fármacos para conseguir una liberación controlada sobre la zona próxima al implante de la prótesis y evitar, en el caso de infecciones bacterianas la formación de *biofilm*, que es capaz de liberar bacterias al tejido circundante e incluso al torrente sanguíneo. Se estudiará a su vez si estos recubrimientos protegen frente a la corrosión y a la lixiviación de níquel.

En la bibliografía algunos autores [1] han recubierto con sílice obtenida por proceso sol-gel, un implante de níquel en forma de láminas $10 \times 2 \times 0,5 \text{ mm}^3$, observando que se ha mejorado la reacción alérgica e inflamatoria en los tejidos blandos que rodean al implante, únicamente por mejorar la corrosión y lixiviación de iones. Esto puede ser debido a una limitada disolución y difusión del níquel sobre el área que rodea al implante. Otros autores [2] han recubierto piezas de Nitinol superelástico de $10 \times 10 \times 0,3 \text{ mm}^3$ mediante un recubrimiento de fosfato de calcio por el método de *dip-coating* introducido por Yan y cols. [3]. Este recubrimiento es capaz de soportar sin romperse los ensayos de flexión característicos de los materiales con memoria de forma y superelásticos. Dicha capa incrementa la biocompatibilidad del Nitinol favoreciendo la osteingración y además, actuará como barrera en la lixiviación de níquel al incorporarse éste a la estructura de la apatita formada [4]. Por otro lado, Yan y cols [3] han recubierto implantes de titanio rectangulares de $10 \times 10 \times 2 \text{ mm}^3$, mediante un tratamiento que incluye: inmersión en NaOH a $60 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 24 h, calcinación a $600 \text{ }^\circ\text{C}$ con una rampa de calentamiento de $0,5 \text{ }^\circ\text{C}/\text{min}$, una permanencia a esa temperatura durante 24 h y posteriormente inmersión en SBF a $36,5 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 4 semanas. Mediante este método se consigue obtener una capa de apatita delgada y uniforme que mejora la formación de enlaces entre el implante y el hueso aunque no resiste grandes cargas, posiblemente debido al aumento de la rigidez de la interfase entre el implante y el hueso.

También se han llevado a cabo recubrimientos por deposición de vapor de Al sobre aleaciones de Mg y se han observado velocidades de degradación menores, aunque su biocompatibilidad se ve afectada negativamente [5]. Por otra parte, en recubrimientos de óxidos de nitruro-titanio ($TiNO_x$) sobre stents de acero inoxidable, se ha observado una mejor biocompatibilidad y reducción del área neoíntima comparado con los stents sin recubrir [6]. Otros óxidos, como los de titanio, los de zirconio, los de iridio y óxidos de metales nobles también se han utilizado como recubrimientos de stents para mejorar las propiedades de corrosión de estos [5,6]. Otro tipo de recubrimientos utilizados sobre stents son los de DLC, demostrándose que pueden considerarse como una barrera para impedir la liberación de iones de manganeso y molibdeno [6], incluso reducen la formación de trombos respecto del stent de acero inoxidable sin recubrimiento. Los recubrimientos de DLC también son utilizados en otro tipo de prótesis como pueden ser en articulaciones de cadera, rodilla, hombro, tornillos ortopédicos y arcos de ortodoncia entre otras por su potencial resistencia al desgaste [7].

También se han llevado a cabo recubrimientos de stents de acero inoxidable con oro, que reducen la formación de trombos y la inflamación [6] pero se ha observado un incremento de la posibilidad de sufrir restenosis [6,8].

Las cerámicas aportan una serie de ventajas, entre ellas que pueden ser fabricadas a partir de elementos que son biocompatibles con los ambientes biológicos humanos, además de poder proporcionar estructuras controladas que pueden servir de interfase entre el metal y el tejido humano [6]. En este sentido, se ha utilizado por ejemplo una biocerámica nanoestructurada como la Merwinita para recubrir una aleación de Mg de $20 \times 15 \times 5 \text{ mm}^3$ mediante un método de electroforesis, mejorando la resistencia a la corrosión, biocompatibilidad, estabilidad mecánica y citocompatibilidad [9].

Sustratos de Nitinol también han sido recubiertos con capas de ZrN mediante procesos de pulverizado que implican temperaturas de hasta $500 \text{ }^\circ\text{C}$ para obtener el mejor resultado. Dichos recubrimientos aumentan la dureza del

sustrato y su resistencia a la corrosión lo que implicará seguramente una disminución de la lixiviación de níquel [10].

También hay trabajos que se centran en recubrimientos usados en la liberación de fármacos, en este sentido, para evitar la formación de *biofilms* bacterianos. Algunos autores utilizan recubrimientos de hidroxiapatita sobre sustratos de Al_2O_3 de 12 x 12 x 1,2 mm³ [11]. En este caso la capa de hidroxiapatita fue depositada mediante el método de deposición asistida mediante haz de iones (IBAD de su acrónimo en inglés: *Ion Beam Assisted Deposition*), posteriormente se sumerge en una disolución de nitrato de plata para intercambiar los iones Ag^+ con los Ca^{2+} de la hidroxiapatita. Mediante este método se consigue una capa de 638 nm de espesor que libera toda la carga de iones plata en 20 h sin conseguir una liberación controlada aunque muestra excelentes propiedades antimicrobianas frente a bacterias como *S. aureus* entre otras. Chen y cols. [12] también recubren con hidroxiapatita impregnada con Ag^+ , discos de titanio de 16 mm de diámetro, 0,5 mm de espesor y diferentes grados de pulido mediante un proceso de pulverizado que implica temperaturas de 400 °C aportando propiedades antibacterianas al titanio. Avés y cols. [13] recubrieron con hidroxiapatita un sustrato de la aleación de Ti6Al4V (1 cm² x 1 mm de espesor) mediante *spin-coating* y aplicando después un procedimiento para la cristalización y densificación de la capa que implica temperaturas de 450 °C. La capa obtenida tiene poros de 5 a 10 µm y libera la gentamicina usada como antibiótico embebida en su interior en 2 horas. Por otro lado, otros autores [14] utilizan recubrimientos de hidroxiapatita directamente sobre sustratos de titanio para la liberación de antibióticos tales como la gentamicina y la vancomicina entre otros. Finalmente indican que los antibióticos incorporados en los recubrimientos de hidroxiapatita pueden ser usados para evitar las infecciones posteriores a la operación y aumentar los enlaces entre el hueso y el implante ortopédico. En estos casos, los recubrimientos se llevaron a cabo sobre láminas de 2 x 2 x 0,1 cm³ y discos de 2 cm de diámetro y 0,1 cm de espesor. Primero depositan por el método de precipitación sobre el sustrato una capa inicial de fosfato de calcio amorfo de 1 - 2 µm de espesor de manera que esta capa sirvió para hacer crecer una segunda capa de fosfato de calcio sumergiéndola en una disolución saturada

de fosfato de calcio a 37 °C durante 48 h, obteniendo así una capa de hidroxiapatita de ~ 70 µm de espesor. El antibiótico se incorporó por impregnación sumergiendo el conjunto en una disolución del fármaco. El problema detectado en este caso es la rápida liberación del fármaco, en el mejor de los casos el más lento lo hizo en 6 horas. Otros trabajos [15] recubren alambres de aleación de Ti6Al4V de 30 mm con sílice obtenida mediante un proceso sol-gel durante el cual se añade vancomicina y depositan la capa en el sustrato mediante *dip-coating*. De esta manera demuestran *in vitro* la eficacia en la disminución de la adhesión de *S. aureus* en la superficie del material y por otro lado, en un modelo animal, se demuestra que previene las infecciones de dicha bacteria. El mismo recubrimiento y sustrato utilizaron otros autores [16] para recubrir láminas de dimensiones 25 x 21 x 0,5 mm³ previamente pasivadas con una disolución de HNO₃. Los espesores de capa homogéneos obtenidos fueron de 120 a 200 nm y observaron que la liberación de vancomicina era más rápida cuanto mayor era la concentración de fármaco en el recubrimiento, liberando el máximo de la carga en un periodo de entre 2 y 4 días, mientras que la capa se iba disolviendo en función del tiempo pudiendo perderse en algunos casos hasta en 5 días. En este caso, liberación de fármaco estaba asociada a un proceso de degradación de la capa puesto que no se trata de un recubrimiento poroso. En pocos trabajos se han realizado recubrimientos de sílice basados en la técnica sol-gel sobre dispositivos metálicos para aplicaciones ortopédicas, seguramente debidos a las altas temperaturas necesarias para la fijación de la capa al sustrato que podrían deteriorar antibióticos añadidos que fueran sensibles a la temperatura [8].

También, mediante un proceso de electrodeposición se han recubierto stents de acero inoxidable con una capa de nanotubos de carbono y nanopartículas mesoporosas de sílice para la liberación controlada de rapamicina. Los resultados del experimento *in vivo* indican el aumento de la velocidad de re-endotelización comparada con la del stent sin recubrir [17]. Mediante deposición física de vapores se ha depositado un recubrimiento de Al₂O₃ nanoporoso sobre un stent de acero inoxidable y cargado posteriormente con tacrolimus mostrando en un ensayo *in vivo* una respuesta inflamatoria más leve en relación al stent sin recubrir [17].

En el presente trabajo, tal y como se mencionó en el capítulo anterior (apartado 2.1.3), las micropartículas esféricas mesoporosas de sílice utilizadas en este trabajo se depositaron en la superficie externa de láminas de Nitinol usando el método de Colvin [18] y mediante un enlace covalente entre dichos materiales mesoporosos y el soporte, siguiendo el proceso para recubrir vidrio con cristales de zeolita orientados descrito por Ha y cols. [19]. A continuación se pasará a estudiar los distintos métodos de recubrimiento utilizados y sus propiedades resultantes.

4.1. Estudio de los recubrimientos basados en micropartículas esféricas mesoporosas

4.1.1. Método de Colvin

4.1.1.1. Recubrimiento sobre material recibido

Mediante el método de Colvin y cols. [18] se ha conseguido depositar una multicapa de micropartículas esféricas mesoporosas en las láminas de material recibido de Nitinol como se muestra en la figura 4.1-a, con un espesor de capa de 7 μm (figura 4.1-b). En algunas áreas se puede observar el efecto de cementación entre las esferas (figura 4.1-c), posiblemente debido a las tensiones inducidas durante el proceso de secado [18,20]. El proceso de recubrimiento está basado en fuerzas de capilaridad muy fuertes en el menisco formado entre el sustrato y la dispersión coloidal, lo que puede inducir a las microesferas a formar una capa en 3D de un grosor controlable [21]. Si el menisco hace un barrido lento a lo largo de todo el sustrato inclinado mediante la evaporación del disolvente se puede formar una multicapa que contiene microesferas suficientemente bien adheridas unas a otras y al sustrato. De tal modo que si se vuelven a sumergir dentro del solvente, esta capa no se destruirá ni se despegará [22], incluso es capaz de resistir 2 minutos de ultrasonidos a una potencia de 360 W sumergida en agua [23].

La figura 4.1-c muestra una sección transversal en la capa de recubrimiento después de un ensayo de flexión de 2 mm, (ver apartado

2.1.4.9). Esta sección en el recubrimiento corresponde al punto de apoyo de la lámina durante el ensayo de flexión. El resto de la capa se mantiene intacta después del ensayo indicando que las tensiones no se transmiten a lo largo de la capa con la suficiente intensidad como para despegarla. Por lo tanto, la capa es capaz de soportar las tensiones de tracción que se generan durante la flexión y que son máximas en el recubrimiento al estar éste en el extremo opuesto al lugar de aplicación de la carga. Este comportamiento sería posiblemente debido a la alta porosidad creada en el recubrimiento por la unión de las esferas entre sí y el sustrato que es capaz de acomodar la extensión y la compresión [2].

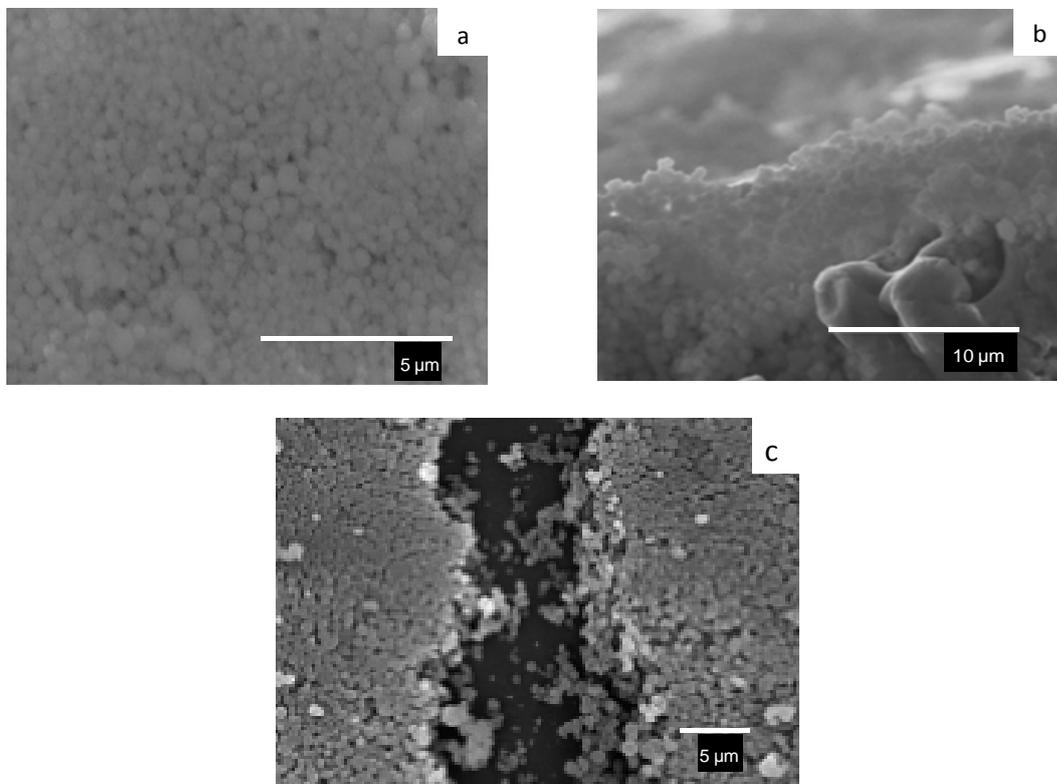


Figura 4.1.- Fotografías SEM del sustrato de Nitinol recibido recubierto mediante el método de Colvin y cols. [18].

Por lo tanto, como se consigue un recubrimiento homogéneo y que resiste ensayos de flexión sin romperse, se podría considerar el método de Colvin como un método de recubrimiento adecuado para la superficie de Nitinol de partida con una elevada rugosidad $R_a = 665 - 886 \text{ nm}$..

4.1.1.2. Recubrimiento sobre material pulido

Para las láminas mecánicamente pulidas, la influencia de la rugosidad se analizó usando este método de recubrimiento. Se observó un empaquetado 3D (figura 4.2-a) más o menos uniforme, de 5 μm de espesor y con cierta cementación entre las esferas [18,20] como puede apreciarse en las figuras 4.2-b y 4.2-c.

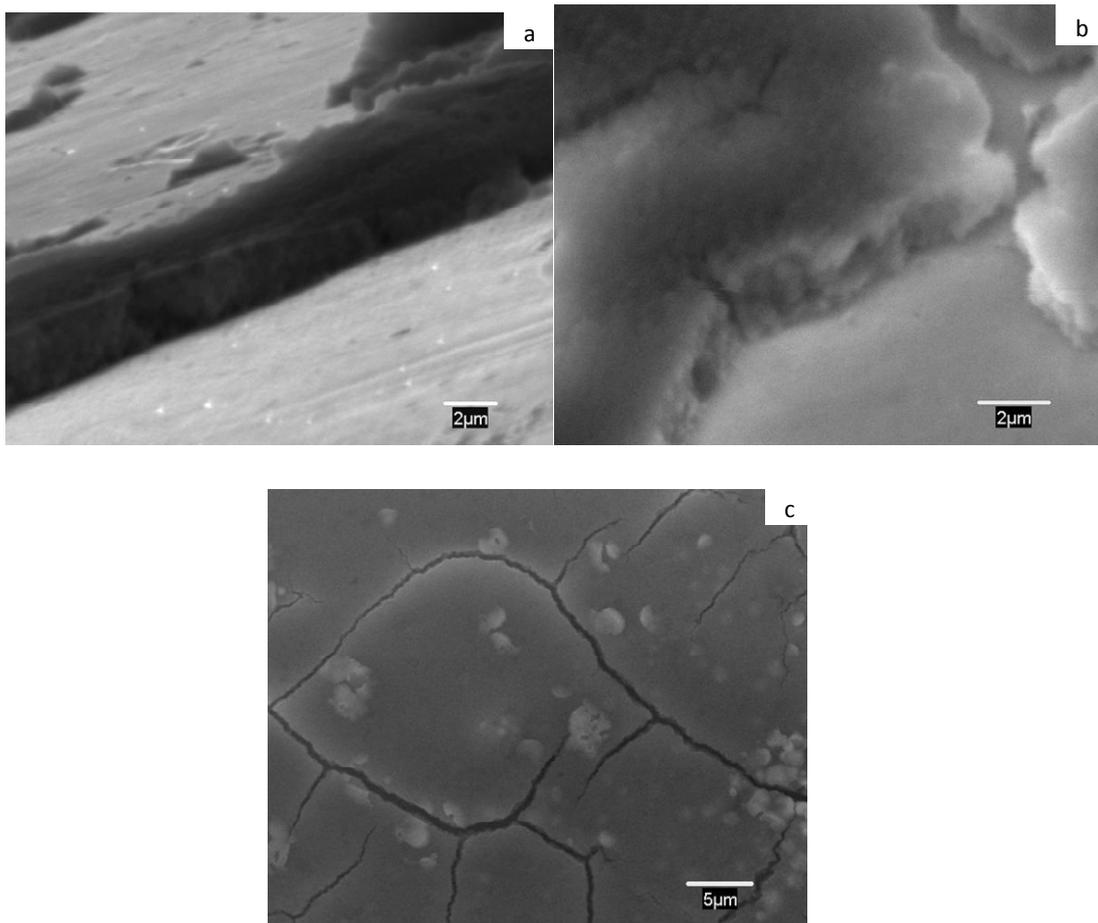


Figura 4.2.- Fotografías SEM del sustrato de Nitinol pulido diamante recubierto mediante el método de Colvin y cols. [18].

Tras los ensayos de flexión se observó que la capa de microesferas de material mesoporoso que recubría el sustrato de Nitinol pulido no se había desprendido debido igualmente a la alta porosidad que se forma en el recubrimiento que es capaz de acomodar la tensión [2]. Por lo tanto, el método de Colvin también puede utilizarse como método de recubrimiento en superficies de Nitinol que presentan una rugosidad baja $R_a < 10 - 18 \text{ nm}$.

4.1.2. Enlace covalente

Siguiendo el método de enlace covalente descrito por Ha y cols. [19] (ver apartado 2.1.3.1.2), los recubrimientos en el material recibido se muestran en las figuras 4.3-a y 4.3-b y consistieron en micropartículas esféricas mesoporosas aisladas. La distribución de las micropartículas fue heterogénea y algunas áreas de las láminas no se recubrieron mientras que en otras se observaron aglomeraciones de micropartículas. Las láminas como en el caso anterior se sometieron a ultrasonidos durante 2 minutos para separar aquellas micropartículas que no estuvieran unidas o que lo estuvieran débilmente. Se observó que un gran número de ellas permanecían unidas incluso tras los experimentos de flexión figura 4.3-b y 4.3-d.

A la vista de los resultados obtenidos, parece obvio pensar que el enlace covalente no es el método más apropiado para recubrir el Nitinol con las microesferas mesoporosas. Este comportamiento podría deberse a la curvatura de dichas microesferas que ofrecen muy poco área de contacto con la superficie del sustrato para que se pueda producir el enlace covalente y obtener un recubrimiento homogéneo de la superficie. Puesto que el Nitinol sin ningún tratamiento posee una superficie muy rugosa $R_a = 665 - 886 \text{ nm}$, las aglomeraciones de las microesferas que se observan podrían coincidir con la parte más rugosa de la superficie del Nitinol donde éstas podrían encontrar más zonas de contacto con el sustrato y obtener mayor fijación en él.

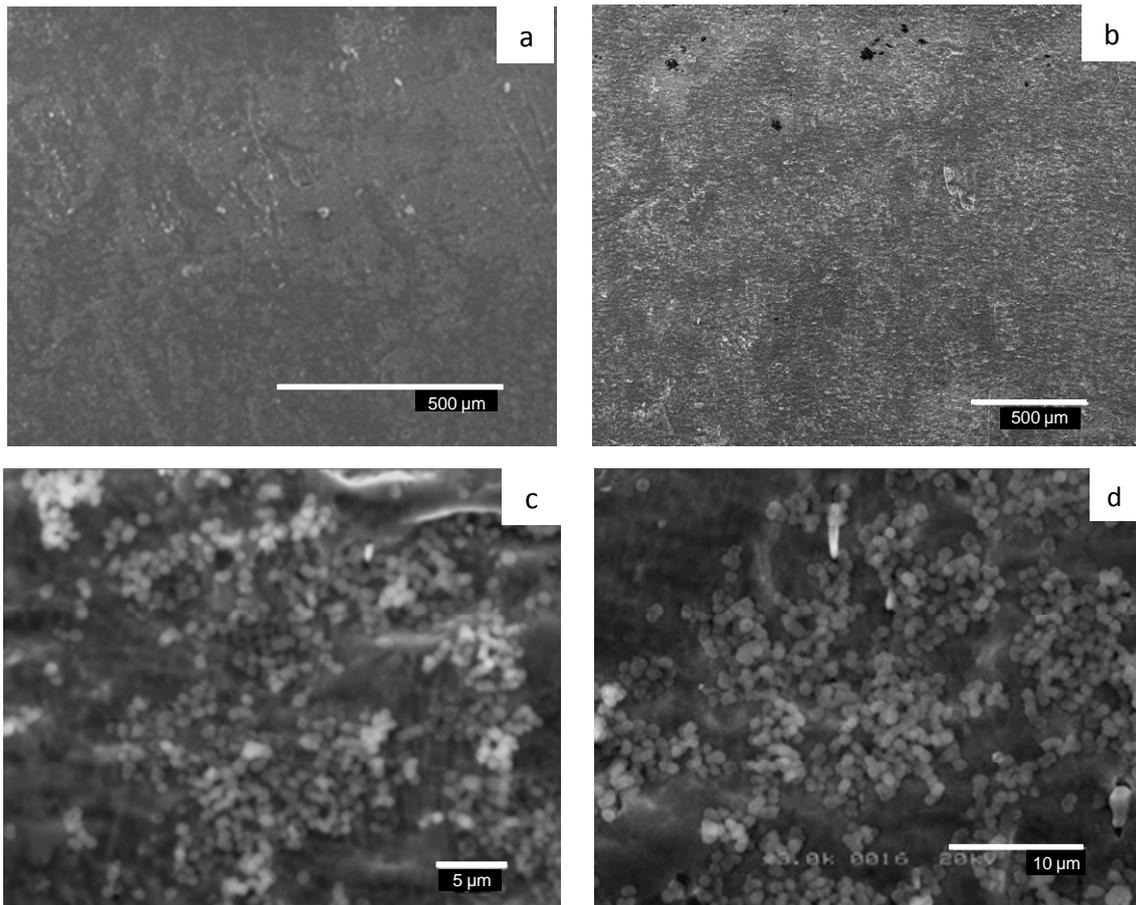


Figura 4.3.- Fotografías SEM del sustrato de Nitinol recibido recubierto mediante enlace covalente de microesferas mesoporosas.

Figuras **a)** y **c)** antes de ensayos de flexión. Figuras **b)** tras 2 mm de flexión y **d)** tras 1 mm de flexión.

4.2. Estudio de los recubrimientos de silicalita-1

Las láminas de Nitinol se recubrieron también con cristales de silicalita-1 usando dos métodos distintos: el método de enlace covalente y la síntesis hidrotermal directa como ya se explicó en el apartado 2.1.3.2.

4.2.1. Enlace covalente

El material recibido fue recubierto mediante el método de enlace covalente, siguiendo los procedimientos experimentales de Ha y cols. [19] y Lee y cols. [24] descritos en el capítulo anterior.

4.2.1.1. Recubrimiento sobre material recibido

Con el método de Ha y cols. [19] los resultados fueron ligeramente mejores que para los obtenidos procediendo de igual manera que con las micropartículas esféricas mesoporosas. La figura 4.4 muestra las fotografías SEM de los resultados obtenidos tras el recubrimiento y posterior ensayo de flexión. Se observa que aunque el recubrimiento no es homogéneo, se ha podido recubrir la superficie con una elevada densidad de cristales. Esto se debe a que los cristales ofrecen mayor área de contacto con la superficie del Nitinol que las micropartículas esféricas y por lo tanto se pueden formar mayor número de enlaces covalentes con la superficie. Otra característica es que el espesor podría corresponder al de una monocapa de cristales (0,5 μm) aunque en algunas zonas existen cristales superpuestos en diferentes orientaciones que están poco o débilmente unidos a la superficie. Tras los ensayos de flexión, la mayoría de los cristales que han permanecido unidos al sustrato han sido aquellos en orientación b (figura 4.5 [25]) que es la que mayor área de contacto ofrece con la superficie del Nitinol y por lo tanto la que mayor densidad de enlaces tendrá. La mayoría de los que estaban superpuestos o en otras orientaciones desaparecen tras los ensayos de flexión. Esto puede entenderse ya que sólo la superficie del Nitinol es la que se funcionaliza con 3-cloropropiltrimetoxilano, y los grupos (-OH) de los cristales, sintetizados a parte, son los que forman enlace con la superficie funcionalizada, por lo que los cristales no pueden formar enlaces entre ellos (apartado 2.1.3.1.2).

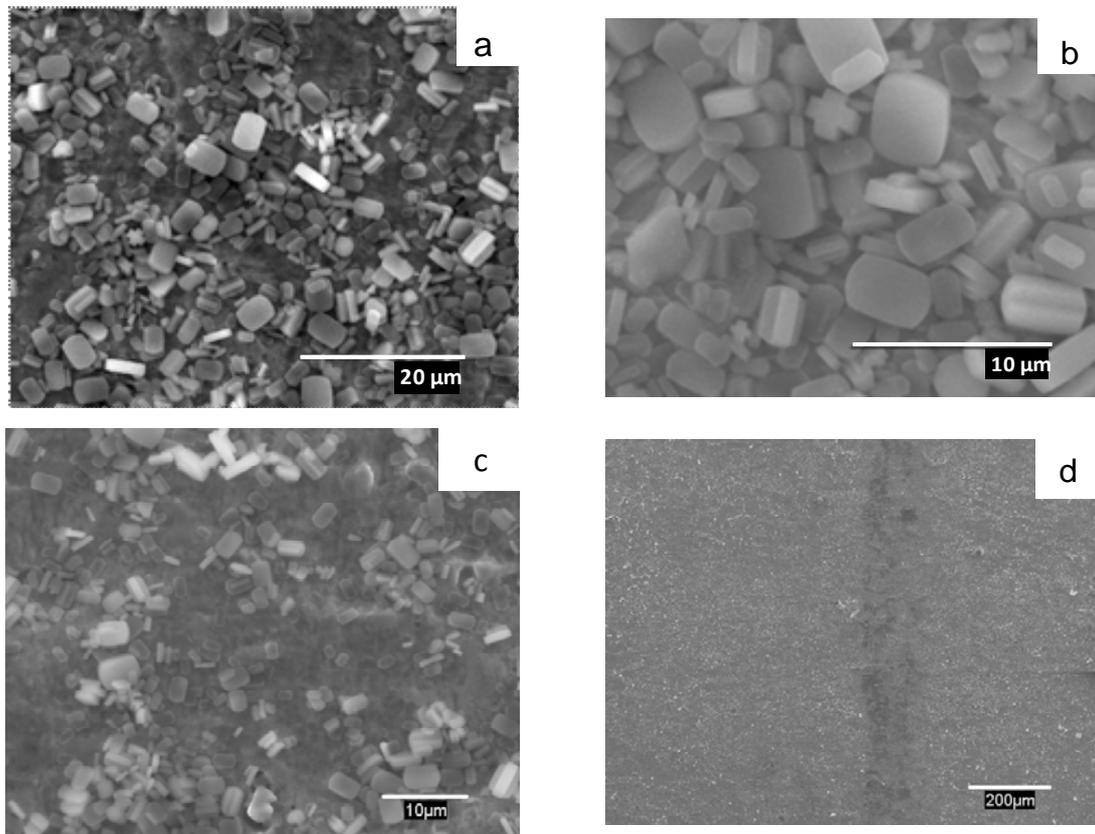


Figura 4.4.- Fotografías SEM del sustrato de Nitinol recibido recubierto mediante enlace covalente. Método de Ha y cols. [19].
Figuras **a)** y **b)** antes de ensayo de flexión. Figuras **c)** y **d)** (maca del apoyo) después de 2 mm de flexión

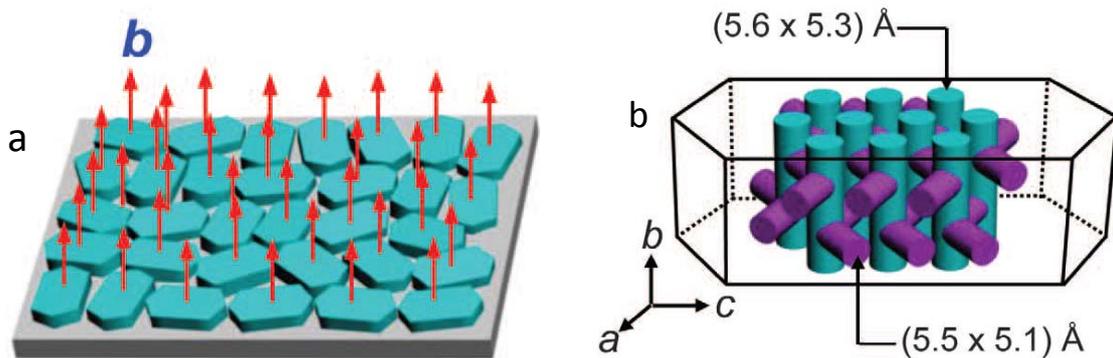


Figura 4.5.- a) Recubrimiento uniforme en orientación *b*.
b) Distribución de poros según orientación [25].

4.2.1.2. Recubrimiento sobre material pre-tratado con HNO_3 , pre-tratado hidrotermalmente y pre-tratado por calcinación

Mediante el método de Lee y cols. [24] se intentó recubrir las superficies de Nitinol recibido con una elevada rugosidad $R_a = 665 - 886$ nm, pre-tratado con HNO_3 ($R_a = 608 - 701$ nm), pre-tratado hidrotermalmente ($R_a = 526 - 680$ nm) y pre-tratado por calcinación ($R_a = 735 - 936$ nm). El recubrimiento de enlace covalente mediante el método de Lee y cols. favorece también que los cristales se fijen en orientación b (figura 4.5), que es la que mayor área de contacto ofrece el cristal respecto a la superficie del Nitinol, como puede observarse en la figura 4.6, aunque la densidad de cristales fijados a la superficie fue baja. La obtención de estos resultados podría deberse a la elevada rugosidad de todos los sustratos, la cual podría influir en la técnica empleada por el método de Lee y cols. [24]. Las fotos realizadas después de los experimentos de flexión muestran que los cristales que se habían unido al sustrato permanecían en él.

Para comprobar si la rugosidad es la responsable de los malos resultados en el recubrimiento, se realizó el mismo proceso en sustratos pulidos a diamante en los que la rugosidad disminuye en torno a unos 10 - 18 nm.

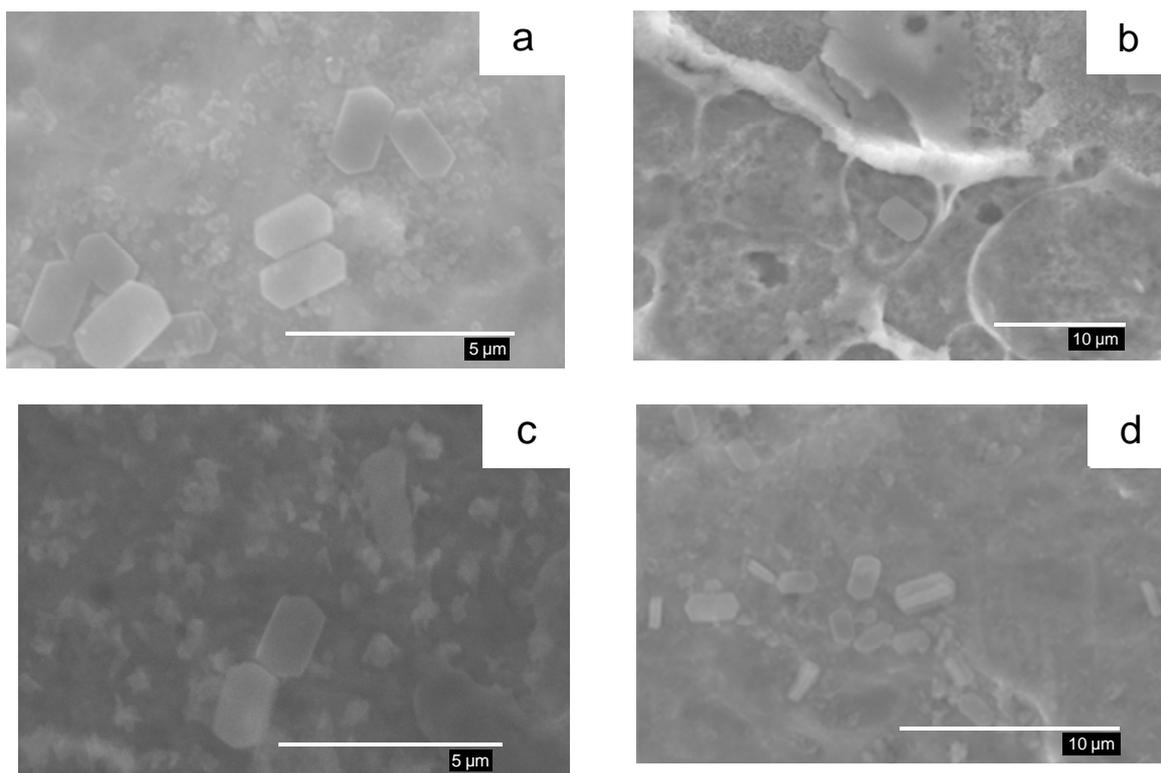


Figura 4.6.- Fotografías SEM del sustrato de Nitinol recubierto mediante enlace covalente. Método de Lee y cols. [24].

a) Recibido. b) Calcinado. c) Oxidado químicamente. d) Tratamiento hidrotermal.

4.2.1.3. Recubrimiento sobre material pre-tratado mediante pulido mecánico

En el caso anterior, todas las superficies tenían una rugosidad mayor de de 500 nm y no se consiguieron de manera efectiva recubrimientos mediante enlace covalente. Ahora, tras el pulido la superficies la rugosidad es menor, con pulido alúmina ($R_a = 20 - 35$ nm) y pulido diamante ($R_a = 10 - 18$ nm). Estas superficies se recubrieron de una manera efectiva con cristales de zeolita en orientación b tanto con el método de Ha y cols. (figura 4.7- a,b,c) como con el método de Lee y cols. (figura 4.7- d,e,f). La orientación b es importante porque, como se ha dicho anteriormente, ofrece la mayor superficie de contacto y es la que ofrece los poros de mayor tamaño para una posterior liberación del fármaco (ver figura 4.5).

Como se observa en la figura 4.7, mediante el método de Ha y cols. continúa obteniéndose cristales superpuestos unos con otros con la orientación preferente b y mediante el método de Lee y cols. se obtiene una monocapa de

crisales de silicalita-1. Por lo tanto la baja rugosidad del sustrato hace que el área de contacto entre el sustrato y el cristal sea máxima y favorece que el cristal se enlace en la orientación mencionada.

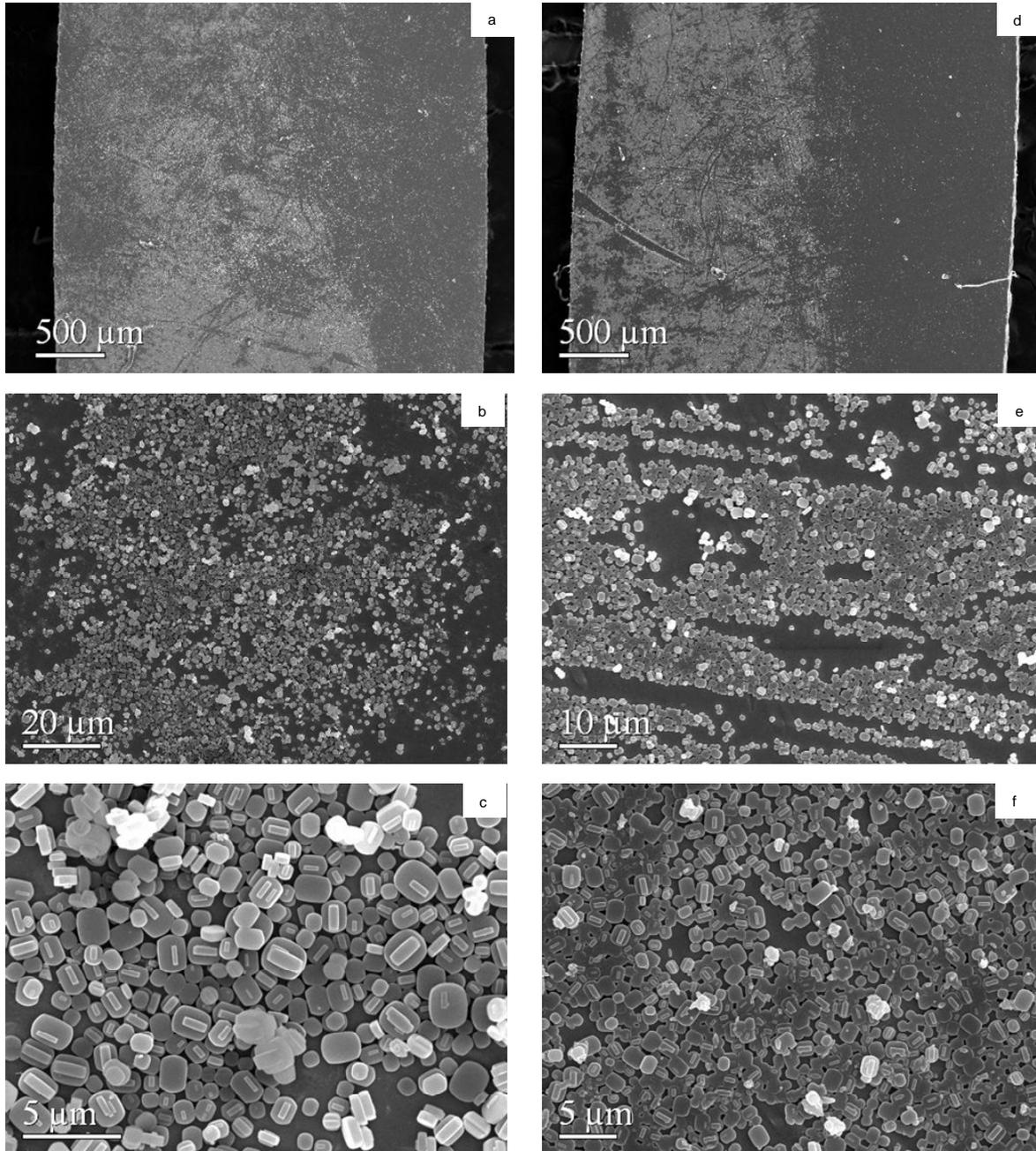


Figura 4.7.- Fotografías SEM del sustrato de Nitinol pulido diamante recubierto con crisales de silicalita-1 mediante el enlace covalente, siguiendo los métodos de:
a) , b) y c) método de Ha y cols.[19]. d), e) y f) método de Lee y cols.[24]

Una vez observado que el método de Lee y cols. proporcionaba buenos recubrimientos con una monocapa de cristales de silicalita-1, para los sustratos pulidos a diamante se realizó un estudio de la influencia del tiempo de ultrasonidos en la formación del recubrimiento. Los tiempos ensayados fueron de 2, 5, 15 y 20 min.

La figura 4.8 muestra los resultados para un tiempo de ultrasonidos de 2 minutos. Como puede apreciarse ya se ha formado una capa de cristales que ocupa el 25 % de la superficie de la de la lámina (dato obtenido con el IMAQ Vision Builder), aunque también se aprecia huecos sin recubrir y unos cristales encima de otros.

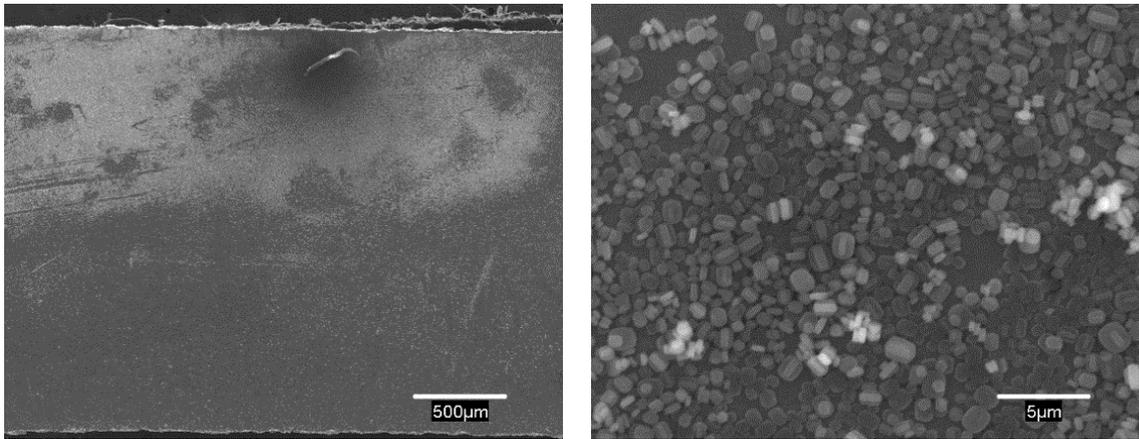


Figura 4.8.- Fotografías SEM del sustrato de Nitinol pulido diamante recubierto con cristales de silicalita-1 mediante el enlace covalente, siguiendo el método de Lee y cols. [24], con 2 minutos de ultrasonidos.

La figura 4.9 muestra que para un tiempo de ultrasonidos de 5 minutos se recubre cerca del 50 % de la superficie de la de la lámina. Aunque se ha recubierto más parte de la lámina siguen apareciendo huecos sin recubrir y se siguen observando surcos en las láminas que no se recubren, posiblemente debidos a defectos provenientes del pulido mecánico.

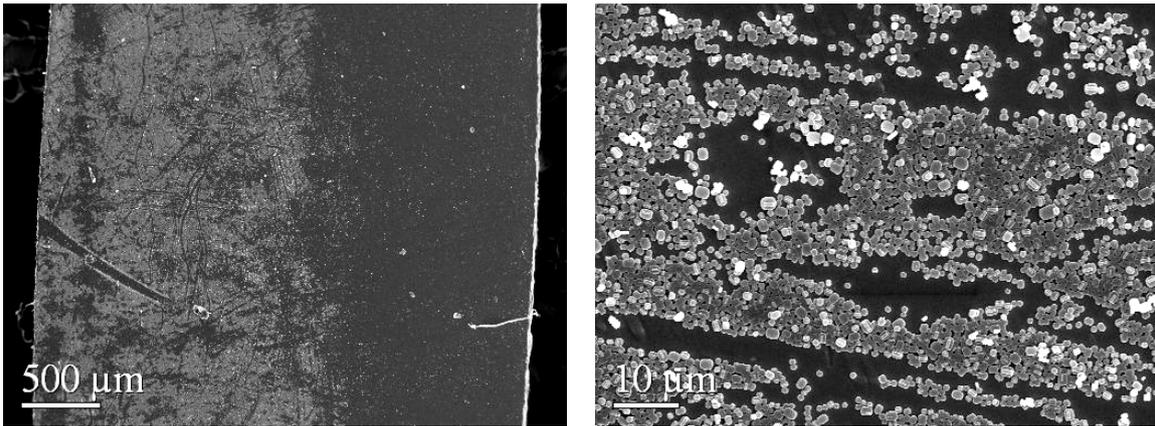


Figura 4.9.- Fotografías SEM del sustrato de Nitinol pulido diamante recubierto con cristales de silicalita-1 mediante el enlace covalente, siguiendo el método de Lee y cols.[24], con 5 minutos de ultrasonidos.

La figura 4.10 muestra los resultados obtenidos para un tiempo de ultrasonidos de 10 minutos. Como se puede apreciar en la figura, prácticamente toda la lámina se ha recubierto, en torno a un 83 % de la superficie de la lámina. En este caso, aunque se siguen apreciando surcos en la lámina, existen cada vez menos huecos entre cristales.

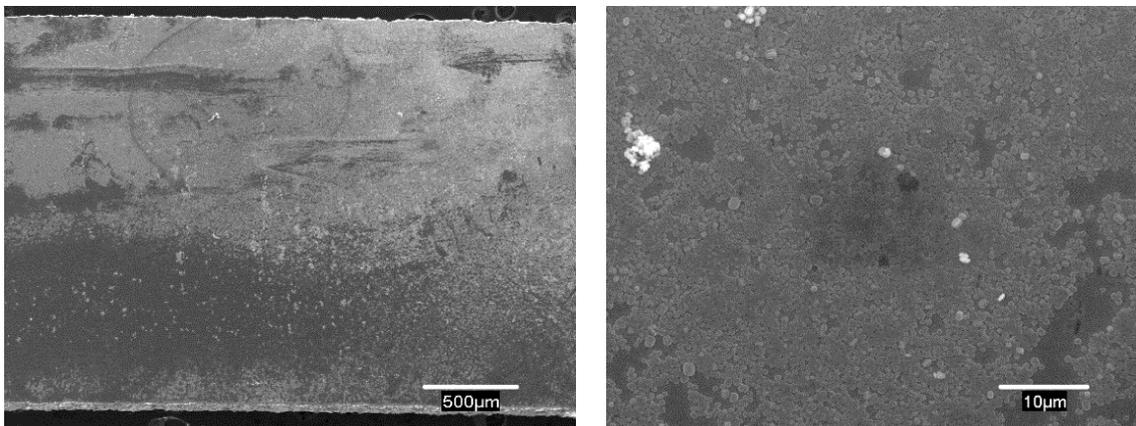


Figura 4.10.- Fotografías SEM del sustrato de Nitinol pulido diamante recubierto con cristales de silicalita-1 mediante el enlace covalente, siguiendo el método de Lee y cols.[24], con 10 minutos de ultrasonidos.

La figura 4.11 muestra los resultados obtenidos para un tiempo de ultrasonidos de 15 minutos. Se aprecia que la lámina está recubierta en un 90 %. En dicha zona apenas existen espacio intercristalinos y el recubrimiento puede considerarse prácticamente una monocapa de cristales de silicalita-1 en orientación b.

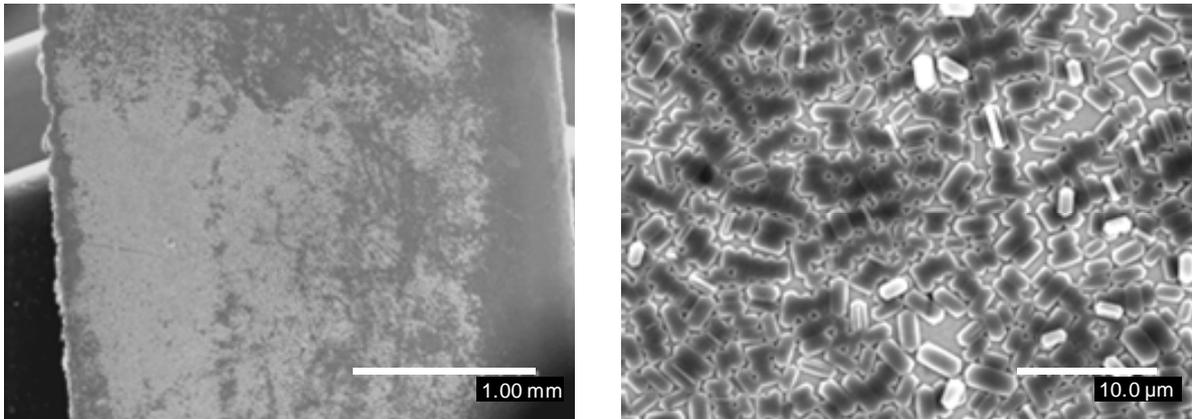


Figura 4.11.- Fotografías SEM del sustrato de Nitinol pulido diamante recubierto con cristales de silicalita-1 mediante el enlace covalente, siguiendo el método de Lee y cols.[24], con 15 minutos de ultrasonidos.

La figura 4.12 muestra los resultados obtenidos para un tiempo de ultrasonidos de 20 minutos. Como se puede observar, un tiempo de 20 minutos de ultrasonidos es demasiado elevado y se pierde gran parte del recubrimiento, quedando muchos huecos sin recubrir entre cristales, los resultados obtenidos indican que sólo el 45 % de la superficie se ha recubierto en este caso. Estas fotografías SEM están tomadas con electrones retrodispersados, por lo que el recubrimiento aparece en oscuro mientras que el sustrato aparece en tonos claros. Por lo tanto, según se ha podido ver en las distintas fotografías SEM, el tiempo óptimo de ultrasonidos estará próximo a los 15 min de ultrasonidos, aunque a partir de 10 minutos el recubrimiento obtenido es superior al 80 % de la superficie disponible.

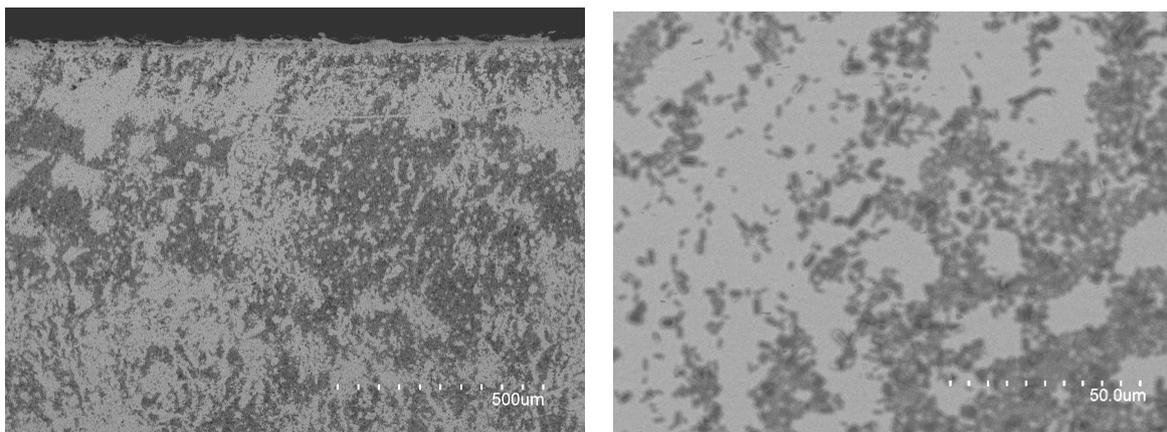


Figura 4.12.- Fotografías SEM tomada con electrones retrodispersados del sustrato de Nitinol pulido diamante recubierto con cristales de silicalita-1 mediante el enlace covalente, siguiendo el método de Lee y cols.[24], con 20 minutos de ultrasonidos.

4.2.2. Síntesis hidrotermal directa

Mediante el método de síntesis hidrotermal directa, se pudieron recubrir de manera efectiva tanto los materiales con alta rugosidad (mayor de 500 nm) como los materiales de baja rugosidad (menores de 35 nm) obteniéndose una capa homogénea de cristales. En la figura 4.13 se muestra el material de Nitinol sobre el que no se ha realizado ningún tratamiento y que ha sido recubierto con cristales de silicalita-1.

En la figura 4.14 se muestran los resultados obtenidos cuando se realiza la síntesis hidrotermal directa de los cristales de silicalita-1 sobre el Nitinol pulido a diamante. El resultado indica de nuevo, una mejora apreciable en el recubrimiento comparando con lo descrito en los apartados 4.2.1.1 y 4.2.1.2 para el enlace covalente.

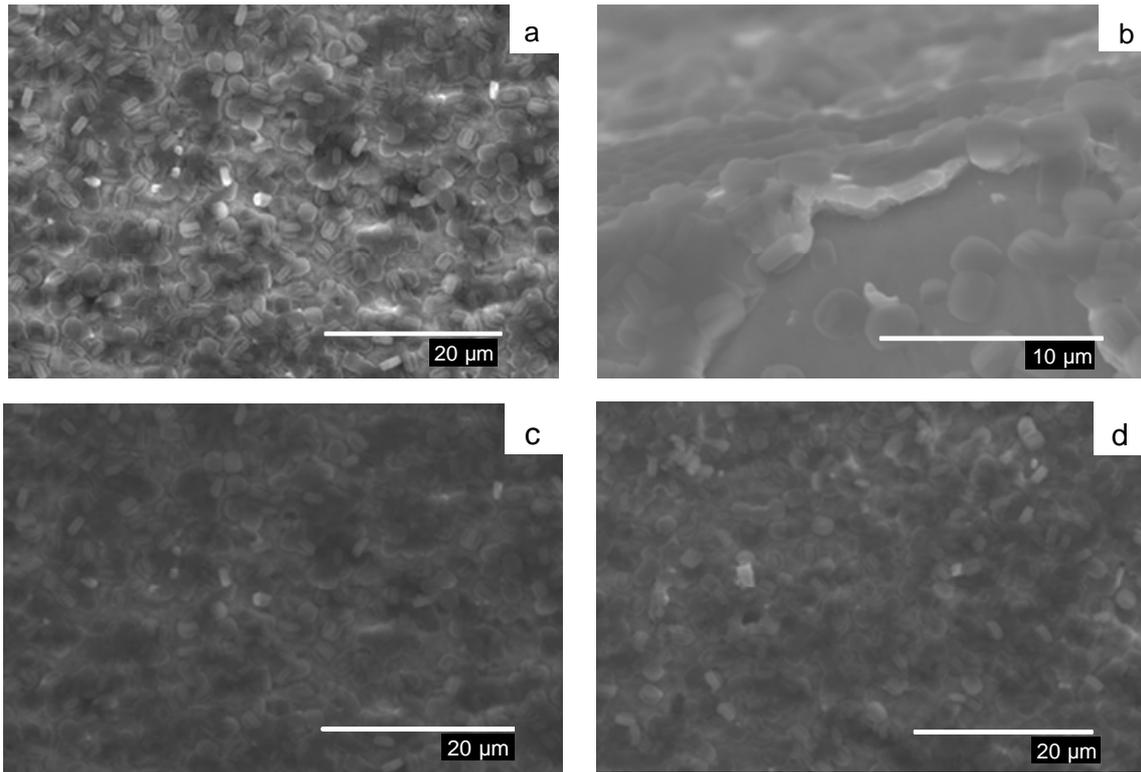


Figura 4.13.- Fotografías SEM del sustrato de Nitinol recubierto con cristales de silicalita-1 mediante la síntesis directa.

Fotografías **a)** y **b)** antes de la flexión. Fotografías **c)** y **d)** después de 1 mm de flexión.

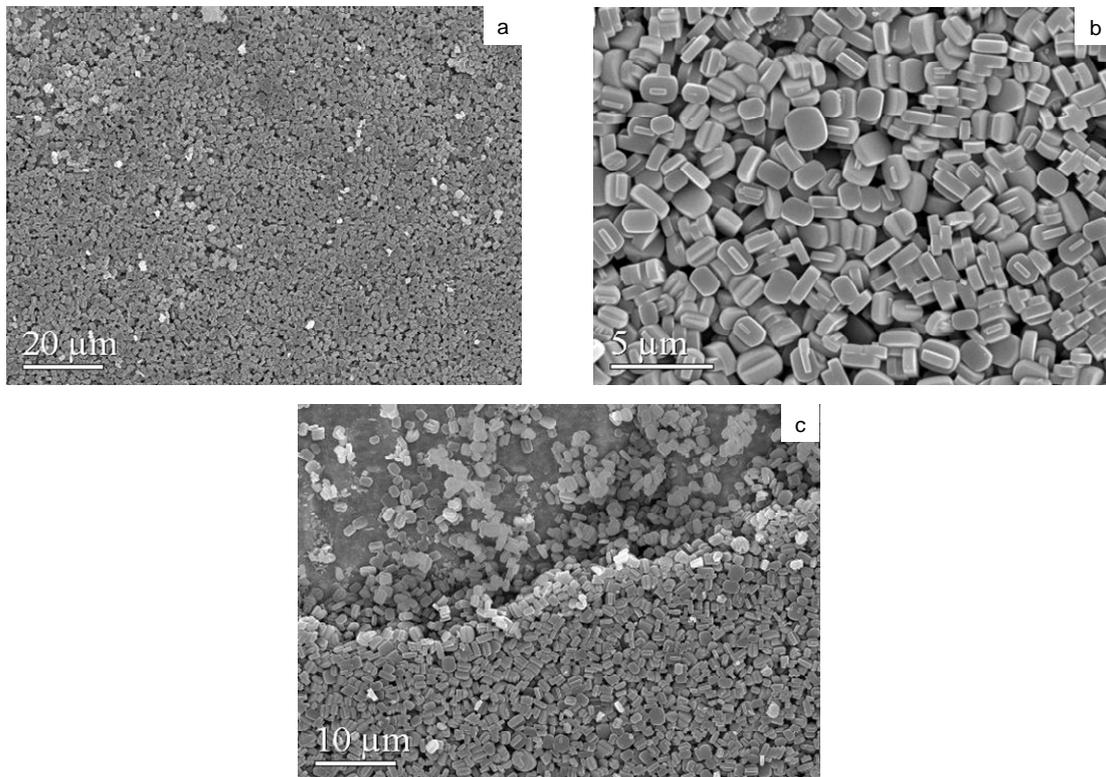


Figura 4.14.- Fotografías SEM del sustrato de Nitinol pulido diamante recubierto con cristales de silicalita-1 mediante la síntesis directa.

Fotografías **a)** y **b)** antes del ensayo de flexión. Fotografía **c)** después de 2 mm de flexión (marca del punto de apoyo).

Con este método, también se ha pretendido modificar el espesor de la capa de recubrimiento realizando sucesivas síntesis sobre el mismo sustrato. En la figura 4.15 se muestra una síntesis hidrotérmal repetida 4 veces. El proceso de recubrimiento de una capa sobre otra produce cristales aislados en la superficie exterior sin intercrecimiento entre ellos al menos en las capas superiores que son fácilmente observables. Después del ensayo de flexión, se observa que dicha capa se rompe. Estas fracturas son debidas posiblemente a que las capas que se sitúan por debajo de la superior sí que parece que han desarrollado un intercrecimiento entre cristales y por lo tanto dichas capas no son capaces de acomodar los esfuerzos de tracción de los ensayos de flexión, lo que produce la rotura de la capa.

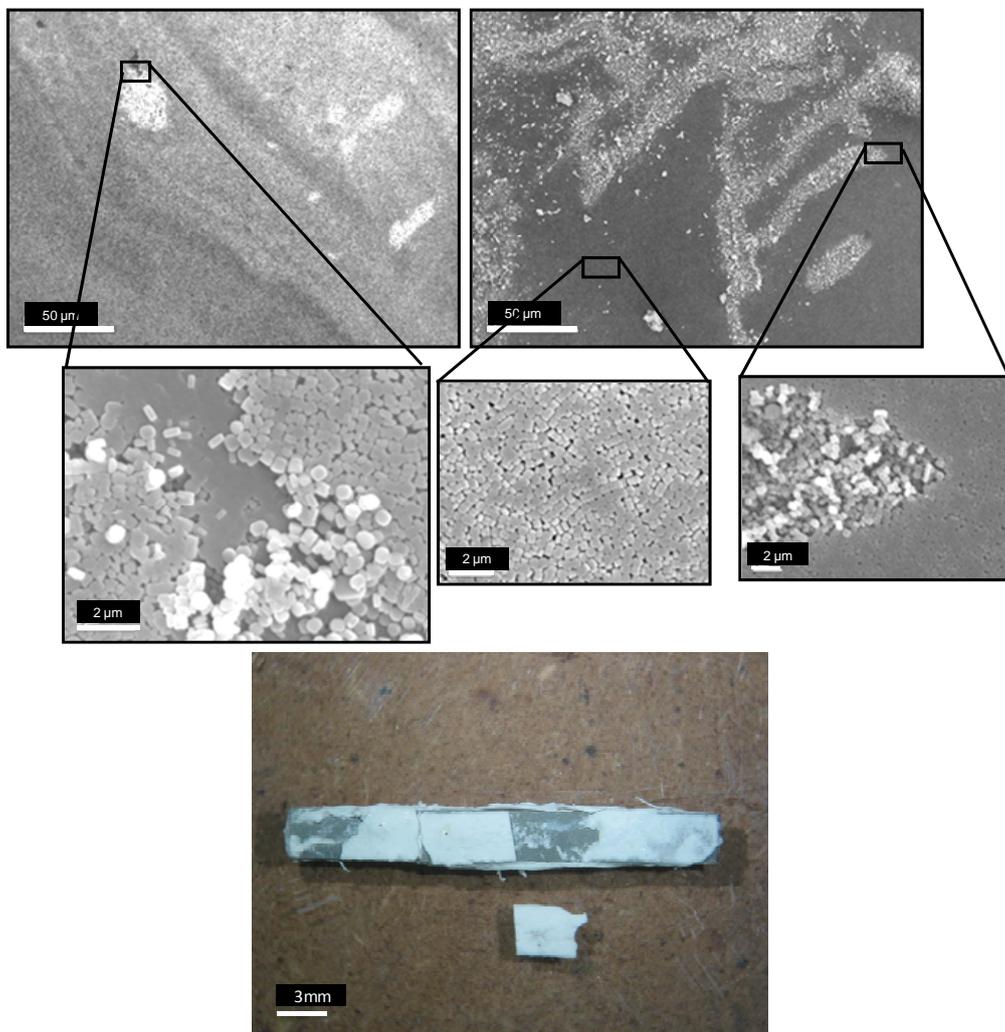


Figura 4.15.- Fotografías SEM del sustrato de Nitinol sin tratamiento recubierto con cristales de silicalita-1 mediante la síntesis directa repetida 4 veces. Fotografías tomadas después del ensayo de flexión.

4.3. Resumen de los resultados obtenidos en los distintos tipos de recubrimientos

Por lo visto en los distintos métodos de recubrimiento, se pueden destacar varias cosas:

El método de Colvin con microesferas mesoporosas se puede utilizar para recubrir tanto las superficies rugosas (más de 500 nm) como superficies lisas (menos de 35 nm) consiguiendo modificar ligeramente el espesor de la capa conforme disminuye la rugosidad.

El método de enlace covalente con cristales de silicalita-1 está afectado enormemente por la rugosidad de la superficie (figura 4.16) y sólo se puede utilizar para recubrir superficies con una rugosidad menor de 35 nm proporcionando la orientación preferencial b. El método de Lee y cols. [24] proporciona una monocapa de cristales en orientación b y el tiempo de ultrasonidos necesario para obtener el recubrimiento óptimo estaría en 15 min. El método de Ha y cols. genera prácticamente una monocapa de cristales en orientación b aunque se pueden observar cristales sobre la monocapa y otros enlazados en distinta orientación.

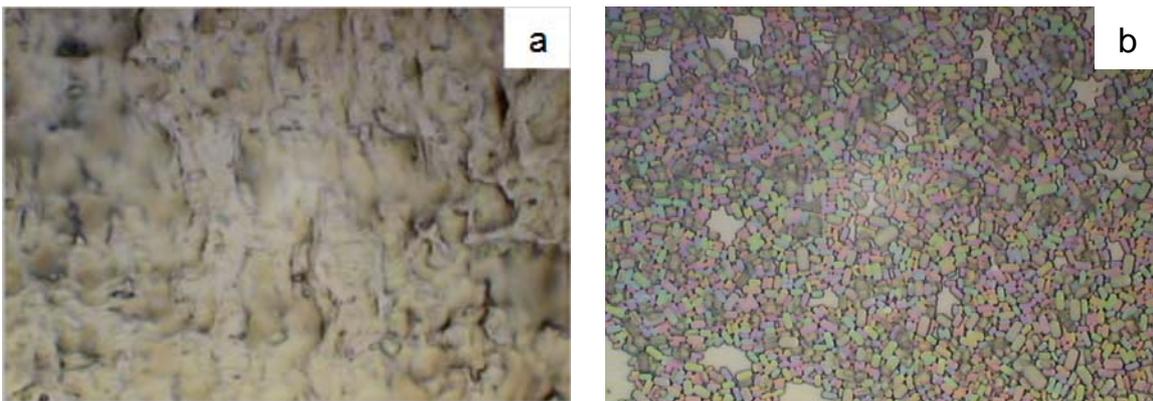


Figura 4.16.- Fotografías tomadas con microscopio óptico. Recubrimiento de cristales de silicalita-1 siguiendo método de Lee y cols.[24] y 15 min de ultrasonidos.

a) Material recibido con cristales aislados y b) Material pulido acabado con diamante con buen recubrimiento.

La síntesis hidrotermal directa estaría influenciada por la rugosidad del sustrato aunque se podrían recubrir sustratos tanto rugosos como lisos. Este método no proporcionaría preferencialmente una orientación b.

Por otra parte, los recubrimientos de materiales silíceos resistieron 2 mm de flexión en todos los casos, excepto en aquellos en los que se realizaron repetidas síntesis hidrotermales, por lo que los métodos de recubrimiento propuestos pueden potencialmente proporcionar propiedades funcionales a la superficie del Nitinol. Una de ellas, sería la que se sugiere en el caso del presente trabajo en el ámbito de aplicaciones médicas. Este recubrimiento puede utilizarse como almacenamiento de un fármaco (por ejemplo un antibiótico) en su matriz porosa para una posterior liberación controlada y sostenida en el tiempo en la zona de un implante donde la infección es más propensa a producirse.

4.4. Estudio del efecto de los distintos métodos de recubrimiento en las propiedades fisico-químicas del Nitinol.

4.4.1. Rugosidad de la superficie

Al igual que el apartado 3.1.3, se midió mediante un microscopio confocal la rugosidad de la superficie de Nitinol pulido una vez recubierta tanto por el método de Colvin para microesferas mesoporosas como con el método de enlace covalente para cristales de silicalita-1. Los resultados se muestran en la tabla 4.1. Como puede observarse en la tabla ambos métodos elevan la rugosidad debido a que en ambos casos existen zonas de la superficie que no están recubiertas totalmente. También es lógico que el método de Colvin sea el que más aumente la rugosidad puesto que es un método con el que se obtenía un recubrimiento homogéneo de multicapas de microesferas mesoporosas hasta un espesor de 5 - 7 μm , mientras con el método de enlace covalente se obtenía una monocapa de cristales de silicalita-1 cuya altura en orientación b sería de ~ 100 nm.

Después del ensayo de corrosión también se midió la rugosidad de dichos recubrimientos y se observó que la rugosidad disminuyó. Este efecto pudo ser debido a que como el ensayo potenciodinámico es un ensayo destructivo, parte del material se desprendería de la superficie durante dicho ensayo.

Para implantes en contacto con la sangre tales como válvulas de corazón artificiales y stents cardiovasculares, la superficie debería ser lisa y la rugosidad estar situada en el nivel de la adsorción de las proteínas (menor de 50 nm), de otra manera, las plaquetas se podrían adherir, agregarse y formar trombos [26]. Sin embargo, si el biomaterial se utiliza para la sustitución de tejidos duros como los huesos y los dientes, la superficie adecuada es la rugosa ya que se mejora la bioactividad de los implantes ya que las células se pueden adherir más fácilmente a superficies rugosas. Un implante con rugosidad, estimulará la formación de apatita similar al hueso y logrará una fuerte integración con el hueso. Normalmente la rugosidad de la superficie debe de estar en el nivel de adhesión celular (1 μm), útil para que un implante tenga una buena osteointegración [26].

Tabla 4.1.- Resultados de las medidas de rugosidad para el material pulido recubierto de de microesferas mesoporosas y cristales de silicalita-1

Sustrato	Antes del ensayo de corrosión (nm)	Después del ensayo de corrosión
Pulido con suspensión de diamante	10-18	10-18
Pulido con suspensión de diamante y recubierto con microesferas mesoporosas mediante el método de Colvin	1000	340-565
Pulido con suspensión de diamante y recubierto con cristales de silicalita-1 mediante enlace covalente (método de Lee y cols. con 15 min de ultrasonidos)	115-250	59-66

4.4.2. Ángulo de contacto

Como se puede observar en la tabla 4.2 los recubrimientos consiguen disminuir el carácter hidrófobo [27] de los sustratos de partida. Esto se debe al carácter hidrofílico del material poroso debido a la gran cantidad de grupos hidroxilo terminales haciendo que el material sea capaz de adsorber el agua en sus poros. Por ejemplo, estudios con tejidos humanos de la encía [28] indican que ángulos de contacto entre 50° - 65° corresponden a una buena adhesión y proliferación celular. En otros estudios [27], superficies de Nitinol con ángulos de contacto comprendidos entre 50° - 58° adsorben mayor cantidad de fibrinógeno, una proteína del plasma sanguíneo relacionada con la trombosis, que superficies con ángulos por encima de 70°. Ángulos de contacto en el rango de hidrofobicidad (80° - 90°) no presentan ninguna influencia en la adhesión y proliferación de células pre-osteoblásticas [29]. Tal y como se observó en el apartado 3.1.6.10 conforme el ángulo de contacto disminuye, la superficie se vuelve más hidrofílica y el potencial de corrosión se hace más negativo.

Tabla 4.2.- Resultados de las medidas de ángulo de contacto para el material recibido y pulido recubierto de de microesferas mesoporosas y cristales de silicalita-1

Tratamiento superficial	Ángulo de contacto (°)
Recibido	68 ± 4
Pulido diamante	85 ± 3
Recibido y recubierto con microesferas mesoporosas mediante el método de Colvin	50 ± 3
Pulido con suspensión de diamante y recubierto con microesferas mesoporosas mediante el método de Colvin	56 ± 4
Pulido con suspensión de diamante y recubierto con cristales de silicalita-1 mediante enlace covalente (método de Lee y cols. con 15 min de ultrasonidos)	66 ± 3

4.4.3. Experimentos de flexión

4.4.3.1. Nitinol recibido recubierto con microesferas mesoporosas mediante el método de Colvin

Como puede verse en la figura 4.17, cuando se recubre el material con microesferas mesoporosas mediante el método de Colvin, aunque se consigue obtener un recubrimiento de 7 μm (apartado 4.1.1.1) no existe ningún efecto significativo en el comportamiento superelástico del material, como era de esperar dada las dimensiones relativas de la capa respecto al espesor del sustrato y la temperatura ambiente en la que se realiza el método de recubrimiento.

4.4.3.2. Nitinol recibido recubierto con microesferas mesoporosas mediante enlace covalente, método de Ha

Como se puede observar en la figura 4.18, la temperatura de 110 °C necesaria para realizar este recubrimiento no afecta a las propiedades mecánicas del sustrato, aunque la curva de descarga es ligeramente diferente y tal vez asociada al efecto térmico del tratamiento. Tampoco ha afectado la capa de microesferas mesoporosas que se ha depositado sobre él como era de esperar ya que en este caso, únicamente se formaban agrupaciones de microesferas aisladas (ver figura 4.3).

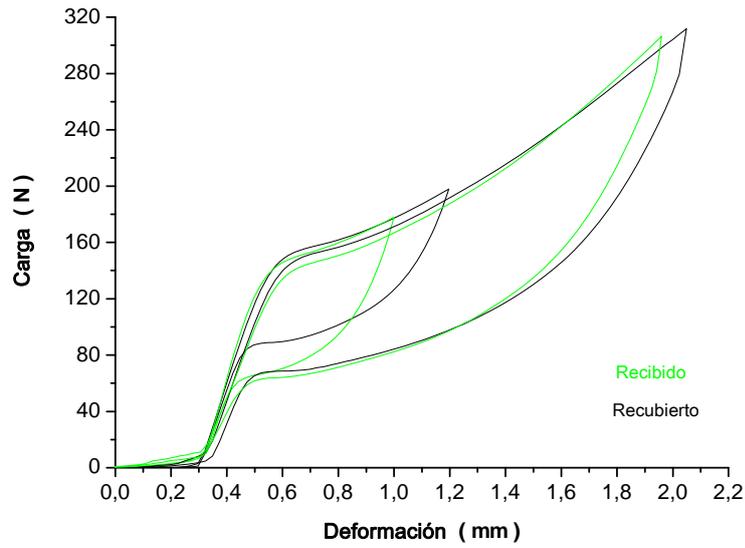


Figura 4.17.- Ensayo de flexión por tres puntos sobre el material recibido recubierto mediante el método de Colvin.

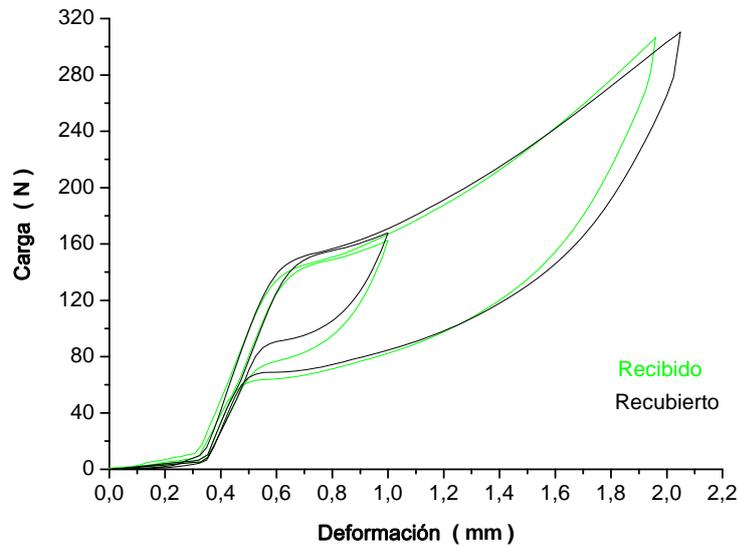


Figura 4.18.- Ensayo de flexión por tres puntos sobre el material recibido recubierto con microesferas mesoporosas mediante enlace covalente método de Ha y cols.[19].

4.4.3.3. Nitinol pulido a diamante recubierto con silicalita-1 mediante enlace covalente, método de Ha

Si se observa la figura 4.19 se puede ver que éste método de recubrimiento, como en los casos anteriores, tampoco afecta a las propiedades de superelasticidad del material, comportándose de la misma manera que el sustrato original. Esto puede ser debido a que mediante este método de recubrimiento sólo se forman enlaces entre los cristales y la superficie del sustrato. Los cristales no forman enlaces entre los cristales adyacentes. De ésta manera los cristales no ejercen ningún tipo de resistencia mecánica a los movimientos de extensión y compresión. Además, como en los casos anteriores, el espesor de capa es despreciable frente al de la lámina.

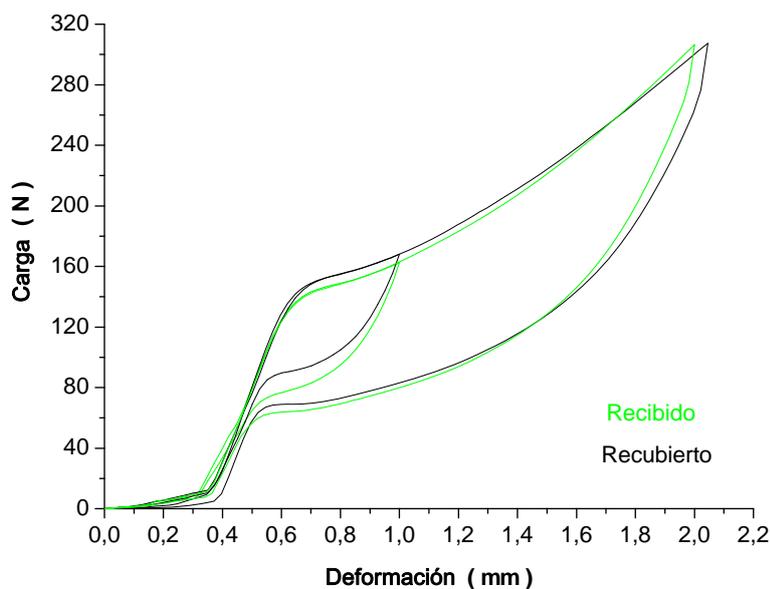


Figura 4.19.- Ensayo de flexión por tres puntos sobre el material recubierto con silicalita-1 mediante enlace covalente método de Ha y cols.[19].

4.4.3.4. Nitinol pulido a diamante recubierto con silicalita-1 mediante enlace covalente, método de Lee

En la figura 4.20 se puede apreciar que tampoco este método de recubrimiento afecta a las propiedades de superelasticidad del material. Como se vio en el apartado 4.2.1.3, mediante este método de recubrimiento se conseguía una monocapa de cristales homogénea con prácticamente el 90 % de la superficie recubierta y sin espacios cristalinos, en el que los cristales están unidos al sustrato y no forman enlaces con los cristales adyacentes, por lo que pueden acomodar las tensiones producidas durante el ensayo.

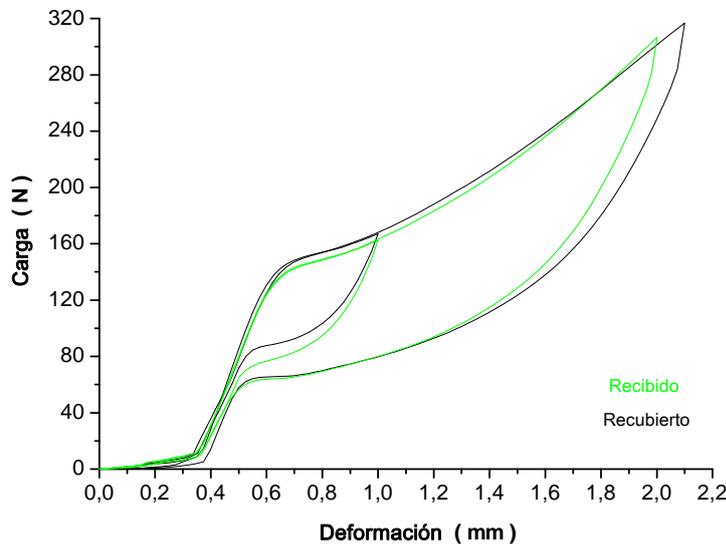


Figura 4.20.- Ensayo de flexión por tres puntos sobre el material pulido recubierto con silicalita-1 mediante enlace covalente método de Lee y cols.[24].

4.4.3.5. Nitinol recibido recubierto con silicalita-1 mediante síntesis directa

Con este método se obtenía un recubrimiento homogéneo de toda la superficie como se ha visto anteriormente (ver apartado 4.2.2). El problema principal de este tipo de recubrimientos es que, aunque la temperatura de síntesis no es alta (130 °C), posteriormente se utiliza temperaturas de 480 °C para eliminar el templante como se describe en el apartado 2.1.1.3 y por lo visto anteriormente, para el pre-tratamiento de calcinación, el sustrato ya pierde sus propiedades de superelasticidad. A continuación se muestra la figura 4.21

que corresponde al material sobre el que se ha realizado una síntesis de silicalita-1 y posteriormente se ha calcinado para eliminar el templante. Se compara con la calcinada a 600 °C y se observa que no hay ninguna diferencia entre la que está únicamente calcinada y la que está recubierta.

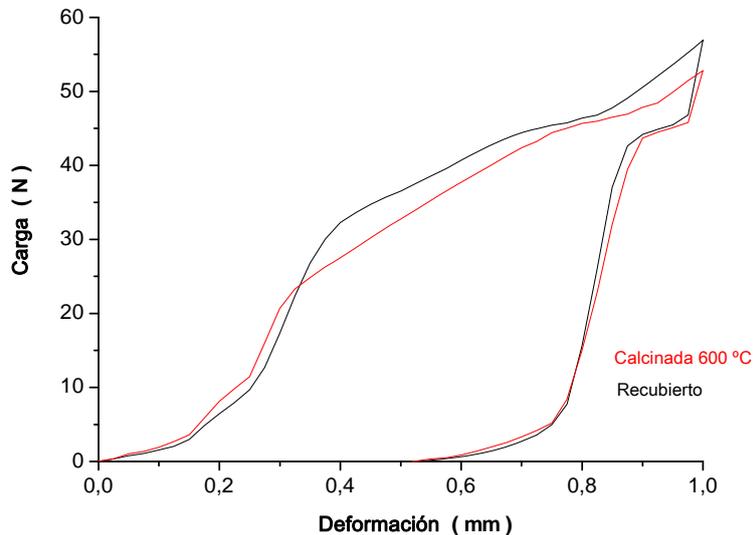


Figura 4.21.- Ensayo de flexión por tres puntos sobre el material recubierto con silicalita-1 mediante síntesis directa sobre el sustrato.

Como se acaba de ver, la síntesis hidrotérmal directa de cristales de zeolita sobre el sustrato pierde su propiedad mecánica de superelasticidad, debido a las altas temperaturas de eliminación de templante, que unido a que además se rompe la capa depositada sobre la superficie después de 4 síntesis (ver apartado 4.1.2.2), nos indica que tampoco puede considerarse un método válido de recubrimiento del Nitinol. Sin embargo se ha visto que una única síntesis hidrotérmal sí que resistía los ensayos de flexión, por lo que se podría optimizar el resultado dentro del rango de 1 a 4 síntesis. Este método podría ser interesante si se pudiese eliminar el proceso de calcinación para eliminar el templante, por ejemplo, usando síntesis libres de templante que existen para algunas zeolitas [30] o bien eliminado el templante mediante extracción [31].

En resumen, ninguno de los recubrimientos efectuados, salvo aquellos que requieren temperaturas altas para llevarlos a cabo, afectan a la superelasticidad del material.

4.4.4. Ensayos de corrosión

4.4.4.1. Material recibido recubierto con microesferas mesoporosas siguiendo el método de Colvin

La figura 4.22 muestra las curvas de polarización para el material recibido y para el mismo material recubierto con microesferas mesoporosas siguiendo el método de Colvin [18] (apartado 4.1.1.1), en ella se observa que el potencial de corrosión, $E_{\text{corr}} = -227 \pm 15 \text{ mV}$ y mediante el método de Tafel [32,33] se puede obtener la densidad de corriente i_{corr} es de $(5,12 \pm 0,36) \cdot 10^{-7} \text{ A/cm}^2$.

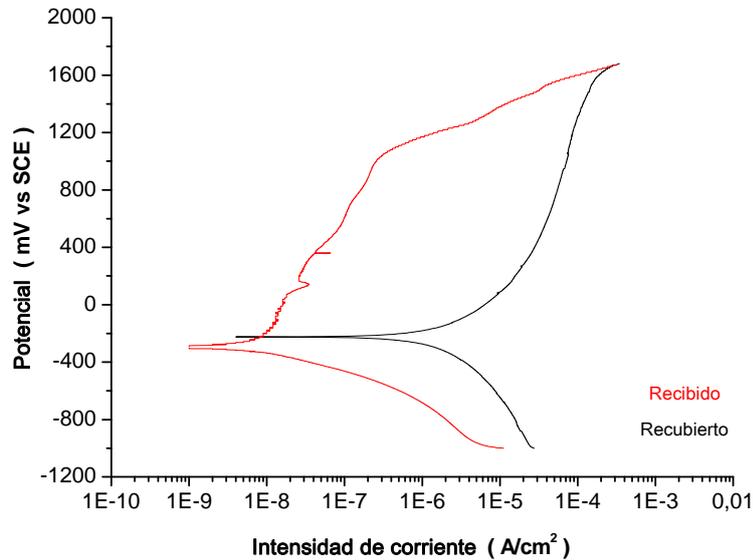


Figura 4.22.- Curvas de polarización del material recubierto con microesferas mesoporosas siguiendo el método de Colvin y cols. [18].

Comparando estos resultados con los del material recibido, se puede ver que, por un lado, el potencial de corrosión es ligeramente mayor que el recibido, pero que la intensidad de corrosión es dos órdenes de magnitud mayor que la del material recibido lo que implica un transporte de masa más rápido y una mayor velocidad de corrosión. Esto podría deberse a que al ser un material altamente poroso, no puede impedir que el fluido biológico simulado (SBF) entre en contacto con la superficie del material y que además provoque una corrosión mayor y localizada en un punto determinado en el que se ha

almacenado más SBF. También se puede observar que al contrario que el material recibido, el recubierto sí que es capaz de formar una débil capa de pasivación con una intensidad $i_p = (3,4 \pm 0,9) \cdot 10^{-5} \text{ A/cm}^2$, mucho mayor que para cualquiera de los métodos estudiados hasta ahora. Esta intensidad de pasivación se mantiene más o menos constante en el intervalo de potenciales de 700 a 1540 mV. También llama la atención que posee el potencial de transpasivación más alto de todos los tratamientos, en torno a los 1600 mV, por lo tanto el material resiste potenciales más altos antes de que ésta capa pasiva se rompa y empiece la corrosión

4.4.4.2. Material pulido diamante recubierto con silicalita-1 siguiendo el método de enlace covalente

La figura 4.23 muestra las curvas de polarización para el material pulido diamante y el pulido a diamante recubierto posteriormente con cristales de silicalita-1 mediante el enlace covalente [19] (ver apartado 4.2.1.3). Para el material recubierto se observa que el potencial de corrosión, $E_{\text{corr}} = -142 \pm 17 \text{ mV}$ e $i_{\text{corr}} = (7,58 \pm 0,4) \cdot 10^{-8} \text{ A/cm}^2$.

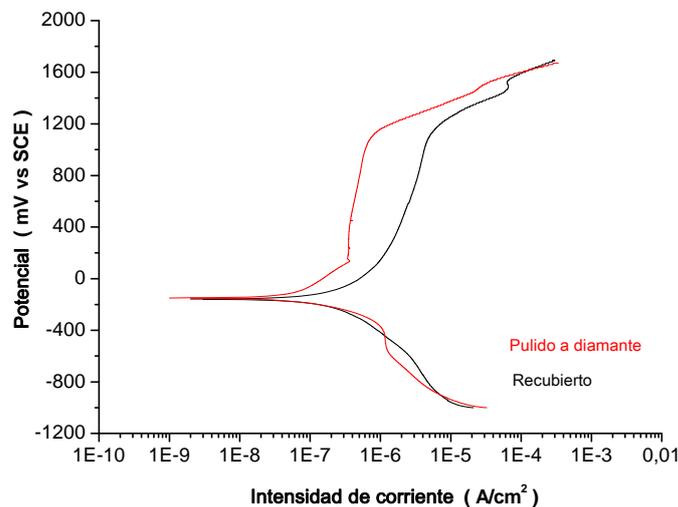


Figura 4.23.- Curvas de polarización del material recubierto con silicalita-1 mediante enlace covalente [19].

Comparando estos resultados con los del material pulido, se puede ver que el recubrimiento no ha mejorado dicho potencial y que tampoco ha conseguido mejorar la i_{corr} , que es unas tres veces mayor y tampoco la

intensidad de pasivación, ya que es un orden de magnitud mayor $i_p = (2,79 \pm 0,8) \cdot 10^{-6} \text{ A/cm}^2$, lo que implica un transporte de masa más rápido y una mayor velocidad de corrosión. Al igual que en el caso anterior, esto podría deberse a que al ser un material altamente poroso, no puede impedir que el fluido SBF entre en contacto con el material y que además provoque una mayor corrosión localizada en un punto determinado en el que se ha almacenado más SBF.

El resumen de los datos obtenidos de los ensayos de corrosión se muestran en la tabla 4.3.

Tabla 4.3.- Tabla resumen de las medidas de corrosión para los distintos recubrimientos sobre Nitinol estudiados

Tratamiento superficial	Potencial de corrosión (mV)	Intensidad de corriente (A/cm^2)	Intensidad de pasivación (A/cm^2)	Potencial de transpasivación (mV)
Recibido	-281 ± 21	$(4,29 \pm 0,38) \cdot 10^{-9}$	No se alcanza	1064 ± 18
Recubrimiento Método de Colvin	-227 ± 15	$(5,12 \pm 0,36) \cdot 10^{-7}$	$(3,4 \pm 0,9) \cdot 10^{-5}$	1616 ± 1
Pulido finalizado con polvo de diamante	-140 ± 12	$(2,23 \pm 0,45) \cdot 10^{-8}$	$(4,54 \pm 0,39) \cdot 10^{-7}$	1141 ± 1
Recubrimiento Enlace covalente	-142 ± 17	$(7,58 \pm 0,4) \cdot 10^{-8}$	$(2,79 \pm 0,8) \cdot 10^{-6}$	1164 ± 1

Los resultados obtenidos en el caso del método de Colvin (material recibido) indican que por un lado aumenta su potencial de corrosión, favorece la formación de una capa de pasivación y que aumenta su potencial de transpasivación. En el caso de método de enlace covalente los resultados son muy parecidos a los del sustrato de partida (material pulido) los resultados no muestran ninguna mejoría sustancial. Sin embargo, en ambos casos, la intensidad de corriente aumenta, lo que implica mayor velocidad de corrosión, posiblemente debido a que la porosidad del material favorezca una mayor corrosión localizada en unos determinados puntos.

4.4.5. Lixiviación de níquel

Unas de las posibles ventajas de utilizar recubrimientos además de mejorar la resistencia a la corrosión y de poder portar fármacos, sería la de evitar la lixiviación de níquel al fluido biológico simulado (SBF). Se han estudiado los dos métodos de recubrimiento que mejor resultado han dado, 1) el recubrimiento con microesferas mesoporosas mediante el método de Colvin con el que se obtenían una multicapa de esferas de 5 ó 7 μm sobre la superficie recibida del Nitinol que resistía los ensayos de flexión (ver apartado 4.1.1.1) y 2) el recubrimiento con silicalita-1 sobre sustrato pulido diamante mediante el método de enlace covalente y 15 minutos de ultrasonidos con el que se obtenía una monocapa de cristales de silicalita-1 sin intercrecimiento entre cristales y sin espacio intercristalinos que resistía los ensayos de flexión (ver apartado 4.2.1.3). Los resultados de lixiviación de níquel han demostrado que ninguno de los recubrimientos ha conseguido disminuir la lixiviación de níquel respecto a los sustratos de partida y se muestran en la figura 4.24.

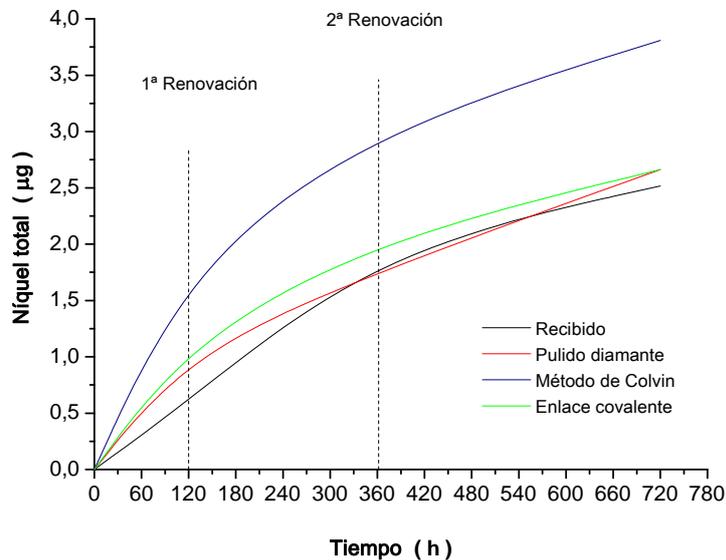


Figura 4.24.- Curvas de lixiviación de níquel de los sustratos de $15 \times 3 \times 1 \text{ mm}^3$ recubiertos con material poroso.

Una de las posibles causas de que el recubrimiento no haya conseguido evitar la lixiviación del Ni es que se trata de un recubrimiento poroso y por lo tanto no puede impedir que el fluido biológico simulado moje el sustrato y que Ni difunda a través del recubrimiento hacia el medio en tiempos de medida tan largos.

Los resultados obtenidos en el caso del recubrimiento mediante enlace covalente son parecidos a los obtenidos para el sustrato pulido a diamante, lo cual tiene sentido ya que el enlace covalente se efectúa sobre un sustrato pulido a diamante. Sin embargo, los resultados en el recubrimiento mediante el método de Colvin no se ajustan a los del material recibido. Esta diferencia se puede achacar a la diferencia en el potencial de corrosión respecto al material recibido que se produce con el recubrimiento. Tal y como se dedujo en el apartado 3.1.8, parece que la lixiviación de níquel viene influenciada por el potencial de corrosión de la superficie del material y los potenciales de corrosión y la lixiviación de níquel de los sustratos recubiertos también corroboran lo deducido en ese apartado (figura 4.25).

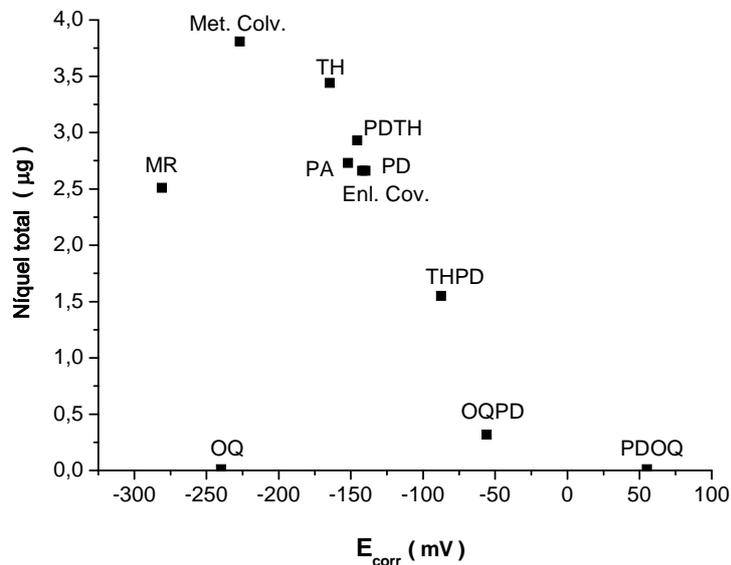


Figura 4.25.- Influencia del potencial de corrosión en la lixiviación de níquel de todos los materiales.

Otro dato que se obtiene del estudio de lixiviación de níquel y que vendría a corroborar lo anterior es que, aunque la capa de recubrimiento es capaz de resistir esfuerzos de flexión y compresión (apartados 4.1. y 4.2), no es capaz de resistir adherida al sustrato tiempos mayores de 15 días sumergido en SBF. Así, durante el estudio de lixiviación de níquel explicado en el apartado 3.1.7, se pudo comprobar que para periodos largos sumergidos en SBF (70 días), dichos recubrimientos se perdían y el silicio era detectado en los ensayos de ICP en mayores cantidades cuanto más tiempo se encontraba la lámina sumergida en el SBF, alcanzando valores de 30,71 mg/L a los 15 días y 34,91 mg/L a los 30 días para el método de Colvin y de valores de 10,55 mg/L a los 30 días para el método de enlace covalente de cristales de silicalita-1 sobre sustrato pulido a diamante, respectivamente. Estos resultados se obtenían sumergiendo las láminas, que han sido recubiertas mediante los distintos métodos durante el tiempo indicado y sin renovación del fluido biológico simulado (SBF), por lo que no se manipula la muestra durante ese tiempo y evita que el recubrimiento pueda desprenderse por algún motivo. Estos resultados fueron corroborados por imágenes SEM en las que se observaba que la capa de recubrimiento no había resistido dicho periodo de tiempo en SBF. Dichos resultados podrían estar de acuerdo con lo que indica la bibliografía, que sugiere que aunque la sílice calcinada está considerada no-bioerosionable, la sílice derivada de sol-gel ($\text{SiO}_2\text{-nH}_2\text{O}$) con poros que van normalmente entre 1 y 10 nm de diámetro podrían serlo y disolverse una pequeña parte de la partícula [34,35] dentro del cuerpo a Si(OH)_4 [36]. Por lo tanto, aunque se disolviese únicamente la capa más externa de una microesfera o de un cristal, la solubilidad de la sílice es de 116 ppm [37], que sería suficiente para perder el enlace que une la partícula con la superficie del Nitinol produciéndose su desprendimiento.

En resumen, los recubrimientos de láminas de Nitinol con materiales silíceos siguiendo los métodos de Colvin y enlace covalente no impiden la lixiviación de níquel al medio.

4.5. Bibliografía

- [1] M. Uo, F. Watari, A. Yokoyama, H. Matsuno, T. Kawasaki, *Biomaterials* 20 (1999) 747
- [2] J. Choi, D. Bogdanski, M. K. Oller, S. A. Esenwein, D. Müller, G. Muhr, M. Epple, *Biomaterials* 24 (2003) 3689.
- [3] W.Q. Yan, T. Nakamura, K. Kawanabe, S. Nishigochi, M. Oka, T. Kokubo, *Biomaterials* 18 (1997) 1185.
- [4] J. Guerra-Lopez, R. Pomes, C.O. Della Vedova, R. Vina, G. Punte, *J Raman Spectr* 32 (2001) 255.
- [5] J. Ma, M. Thompson, N. Zhao, D. Zhu, *Journal of Orthopaedic Translation* 2 (2014) 118.
- [6] A. Guildford, M. Santin, G. J. Phillips, *Capítulo 7. Cardiovascular stents*. University of Brighton, UK.
- [7] M. Fedel, *Capítulo 4. Blood compatibility of diamond- like carbon (DLC) coatings*. University of Trento. Italy.
- [8] A. Simchi, Dr Eng, E. Tamjid, MSc. Eng, F. Pishbin, MSc. Eng, A.R. Boccaccini, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 7 (2011) 22.
- [9] M. Razavi, M. Fathia, O. Savabi, B. H. Beni, D. Vashae, L. Tayebi, *Ceramics International* 40 (2014) 9473.
- [10] D. Roman, J. C. Bernardi, C. D. Boeira, F. S. de Souza, A. Spinelli, C. A. Figueroa, R. L.O. Basso, *Surface & Coatings Technology* 206 (2012) 4645.
- [11] Q. L. Feng, T. N. Kim, J. Wu, E. S. Park, J. O. Kim, D. Y. Lim, F. Z. Cui, *Thin Solid Films* 335 (1998) 214.

- [12] W. Chen, Y. Liu, H.S Courtney, M. Bettenga, C.M. Agrawal, J.D. Bumgardner, J.L. Ong, *Biomaterials* 27 (2006) 5512.
- [13] E.P. Avés, E. Gastón, M. Soares, J. C. Galván, J.C.Llópiz, I.N. Bastos, G. D. Almeida, *J. Mater. Sci-Mater. Med.* 20 (2009) 543.
- [14] M. Stigter, J. Bezemer, K. de Groot, P. Layrolle, *Journal of Controlled Release* 99 (2004) 127.
- [15] C. S. Adams, V. Antoci, G. Harrison, P. Patal, T. A. Freeman, I. M. Shapiro, J. Parvizi, N. J. Hickok, S. Radin, P. Ducheyne, *J. Orthop. Res.* 27 (2009) 701.
- [16] S. Radin, P. Ducheyne, *Biomaterials* 28 (2007) 1721.
- [17] Y. Wang, W. Zhang, J. Zhang, W. Sun, R. Zhang, H. Gu, *ACS Applied Materials & Interfaces* 5 (2013) 10337.
- [18] P. Jiang, J.F. Bertone, K.S. Hwang, V.L. Colvin, *Chem. Mater.* 11 (1999) 2132.
- [19] K. Ha, Y.J. Lee, D.Y. Jung, J.H. Lee, K.B. Yoon, *Adv. Mater.* 12 (2000) 1614.
- [20] Bergna, H. E. *The Colloid Chemistry of Silica*; Ed.; American Chemical Society: Washington, DC, 1994; Vol. 234, p 376.
- [21] Y.A. Vlasov, X.Z. Bo, J.C. Sturm, D.J. Norris, *Nature* 414 (2001) 289.
- [22] D.J. Norris, E.G. Arlinghaus, L. Meng, R. Heiny, L.E. Scriven, *Adv. Mater.* 16 (2004) 1393.
- [23] L.M. Pérez, M. Arruebo, S. Irusta, L. Gracia-Villa, J. Santamaría, J.A. Puértolas, *Microporous and Mesoporous Materials* 98 (2007) 292.
- [24] J.S. Lee, K. Ha, Y.J. Lee, K.B. Yoon, *Adv. Mater.* 17 (2005) 837.
- [25] C.T.P. Tung, H.S. Kim, K.B. Yoon, *Science* 334 (2011) 1533.
- [26] J.-X. Liu, D.-Z. Yang, F. Shi, Y.-J. Cai, *Thin Solid Films* 429 (2003) 225.

- [27] S. A. Shabalovskaya, D. Siegismund, E. Heurich, M. Rettenmayr, *Materials Science and Engineering C* 33 (2013) 127.
- [28] L. Ponsonnet, K. Reybier, N. Jaffrezic, V. Comte, C. Lagneau, M. Lissac, C. Martelet, *Materials Science and Engineering C* 23 (2003) 551.
- [29] R. Rokicki, W. Haider, T. Hryniewicz, *J. Mater. Sci: Mater Med* 23 (2012) 2127.
- [30] M. Pan, Y.S. Lin, *Microporous and Mesoporous Materials* 43 (2001) 319.
- [31] B. Gautier, M. Smaïhi, *New Journal of Chemistry* 28 (2004) 457.
- [32] Y.F. Zheng, B.L. Wang, J.G. Wang, C. Li, L.C. Zhao, *Materials Science and Engineering A* 438–440 (2006) 891.
- [33] X.L. Zhang, Zh.H. Jiang, Zh.P. Yao, Y. Song, Zh.D. Wu. *Corrosion Science* 51 (2009) 581.
- [34] C. Yagüe, M. Moros, V. Grazú, M. Arruebo, J. Santamaría, *Chemical Engineering Journal* 137 (2008) 45.
- [35] J. Livage, T. Coradin, C. Roux, *J. Phys. Condes. Matter* 13 (2001) R673.
- [36] P. Korteso, M. Ahola, S. Karlsson, I. Kangasniemi, A. Yli-Urpo, J. Kiesvaara, *Biomaterials* 21 (2000) 193.
- [37] W.L. Lindsay *Chemical Equilibria in Soil* John Wiley & Sons, USA (1979).

5. LIBERACIÓN DE FÁRMACOS EN CIRUGÍA ORTOPÉDICA Y TRAUMATOLOGÍA

En traumatología existe un creciente interés por la utilización de dispositivos médicos, diseñados a partir de biomateriales que puedan aportar propiedades liberadoras de fármacos, factores de crecimiento u otras sustancias que favorezcan la osteointegración. Las soluciones aportadas para los sistemas de liberación de fármacos, como se ha visto, consisten principalmente en andamios porosos, en cuya estructura se encuentran tanto materiales orgánicos como inorgánicos mesoporosos impregnados de fármacos [1-6]. En cuanto a los dispositivos médicos metálicos la principal solución aportada son los recubrimientos tanto poliméricos [7] como inorgánicos [8, 9,10].

El presente trabajo pretende aportar una nueva solución a partir no de un recubrimiento sino del uso del interior de un implante metálico poroso que actúe como reservorio de un material de sílice mesoporoso que contiene el fármaco. De esta manera, la velocidad de liberación del fármaco es controlada por acoplamiento de dos etapas de transporte de masa en serie.

- En una primera etapa, el fármaco que está adsorbido en el lecho empaquetado de micropartículas se libera en el espacio interior del dispositivo desde el interior de los poros del material silíceo mesoporoso.
- El segundo paso corresponde a la difusión del fármaco desorbido a través de la pared porosa del dispositivo hacia el espacio exterior del dispositivo.

El concepto se muestra esquemáticamente en la figura 5.1.

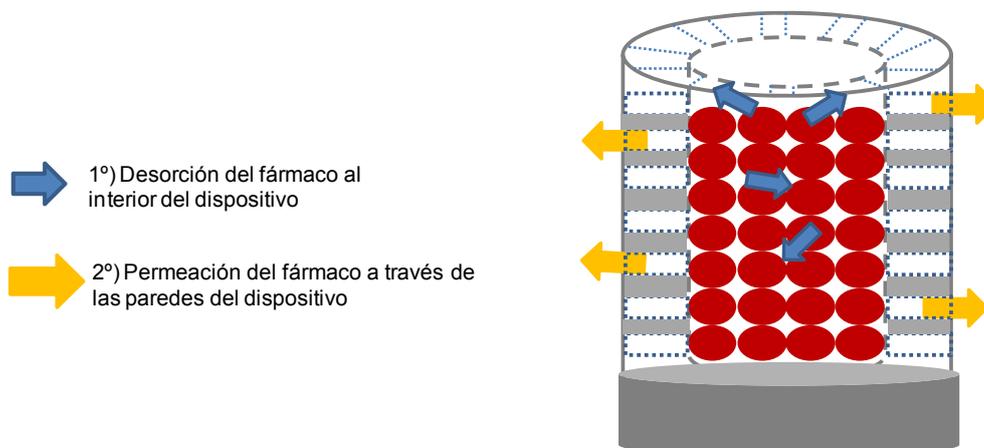


Figura 5.1.- Representación esquemática del dispositivo de liberación de fármaco desde un lecho empacado en su interior [11].

Como una prueba de concepto (figura 5.1) se diseñó un depósito de acero inoxidable 316L poroso, de una porosidad nominal de $0,2 \mu\text{m}$ y una porosidad volumétrica del 17 %, que imita los pernos utilizados en la fijación externa de la fracturas. Su interior hueco fue cargado con micropartículas mesoporosas de sílice (MCM-41, MEM, SBA-15) en cuyos poros se había adsorbido previamente un antibiótico (Linezolid comercial Zyvox®) y se estudió la velocidad de liberación de dicho antibiótico al líquido que rodea el dispositivo (fluido biológico simulado "SBF" a $37 \text{ }^\circ\text{C}$).

5.1. Estudio mecánico del dispositivo

Como dicho dispositivo simula un tipo de sistema de fijación externo, también se ha evaluado el funcionamiento mecánico de este acero inoxidable poroso, para comprobar que la porosidad del dispositivo no compromete la resistencia mecánica considerando las tensiones normales a las que se ven sometidos durante su operación y puede servir como elemento de fijación sin fracturarse cuando se someta a las cargas habituales del paciente. Para realizar esta evaluación, se han llevado a cabo ensayos mecánicos de compresión y de flexión por tres puntos.

Las curvas comparativas de tensión-deformación, σ - ϵ , en el ensayo de compresión tanto del material poroso como de material sólido comparativo se muestran en la figura 5.2

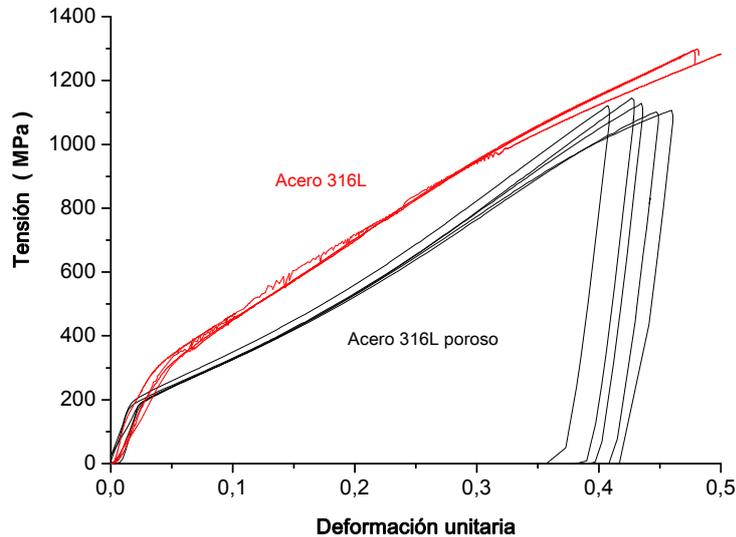


Figura 5.2.- Comparación de las curvas de tensión-deformación a compresión para los tubos de acero 316L y del tubo de acero 316L poroso.

El comportamiento reproducible y cualitativo similar en ambos materiales. La primera parte de la curva muestra una tendencia lineal, caracterizada por un módulo elástico a compresión, E , que es prácticamente el mismo para ambos materiales. Esta región lineal finaliza en el límite elástico de compresión σ_y , diferente en ambos materiales. El acero inoxidable 316L empieza la región plástica aproximadamente a 300 MPa mientras que el acero poroso alcanza este punto a una tensión menor, alrededor de 200 MPa. El siguiente paso corresponde con una larga deformación asociada con el flujo plástico mostrado por una pendiente más suave. El comportamiento plástico puede observarse con la deformación permanente que aparece después de la curva de descarga, cuya pendiente es similar a la pendiente inicial como se esperaba. Los ensayos finalizaron cuando se alcanzó una deformación cercana al 50 % por lo tanto, sin alcanzar la fractura. Si se comparan estos datos con las características mecánicas del hueso cortical humano, la literatura proporciona valores para la resistencia a la rotura en compresión entre 125,6 y 250 MPa [12,13]. Por lo tanto, aunque los poros presentes en el acero poroso

inducen una pérdida de la rigidez en la compresión comparado con el material sólido, evaluada en un 50 % menos, el acero poroso ensayado presenta propiedades mecánicas superiores a las del hueso cortical.

Los ensayos de flexión por tres puntos se llevaron a cabo tanto con tubos de material poroso como material sólido. Cuando una muestra se carga en flexión, se generan tensiones de tracción en las superficies convexas y de compresión en las superficies cóncavas. Con el objetivo de comparar los resultados de los ensayos de flexión de ambos materiales, que fueron llevados a cabo en probetas de diferentes dimensiones, en lugar de representar las curvas de carga-deformación ($F-\delta$) se ha representado en la figura 5.3 la tensión máxima a la tracción frente a la deformación ($\sigma-\epsilon$), utilizando la teoría de flexión de vigas y asumiendo un comportamiento lineal.

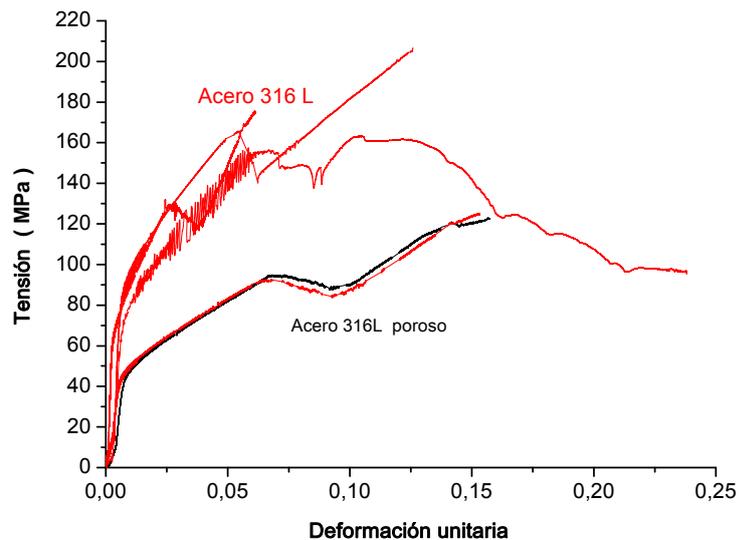


Figura 5.3.- Comparación de las curvas de flexión por tres puntos para los tubos de acero 316L y del tubo de acero 316L poroso.

Para el caso de un tubo sometido a flexión por tres puntos esta tensión de tracción máxima se expresa como:

$$\sigma = \frac{P \cdot L \cdot R_{ext}}{4 \cdot I} \quad (5.1)$$

donde σ es la tensión máxima, P es la fuerza aplicada, L es la longitud activa, R_{ext} es el radio exterior del tubo, e I es el del momento de inercia. El momento de inercia refleja la distribución de la masa de un cuerpo respecto a su eje de giro y depende exclusivamente de la geometría del cuerpo y de la posición del eje de giro, de manera que cuanto mayor sea la distancia entre la masa y el centro de rotación mayor será el valor del mismo [14]. Para una sección transversal en forma de corona circular vendría definido por la ecuación (5.2).

$$I = \frac{\pi \cdot (R_{ext}^4 - R_{int}^4)}{64} \quad (5.2)$$

La flecha δ producida por la fuerza P viene determinada por la ecuación:

$$\delta = \frac{P \cdot L^3}{48 \cdot E \cdot I} \rightarrow I = \frac{P \cdot L^3}{48 \cdot E \cdot \delta} \quad (5.3)$$

Sustituyendo I de la ecuación 5.3 en la ecuación 5.1 y teniendo en cuenta el comportamiento lineal entre σ y la deformación unitaria ε :

$$\sigma = \frac{P \cdot L \cdot R_{ext}}{4 \cdot I} = \frac{P \cdot L \cdot R_{ext}}{4 \cdot \frac{P \cdot L^3}{48 \cdot \delta \cdot E}} = \frac{48 \cdot \delta \cdot R_{ext} \cdot E}{4 \cdot L^2} = \frac{12 \cdot \delta \cdot R_{ext} \cdot E}{L^2}$$

$$\sigma = E \cdot \varepsilon \rightarrow \varepsilon = \frac{\delta \cdot 12 \cdot R_{ext}}{L^2} \quad (5.4)$$

La pendiente de la línea recta inicial del diagrama tensión-deformación es el módulo de Young, E en [Pa]. En este caso, la pendiente inicial del

material poroso es menor que la del material sólido, conforme a la expresión de McElhaney-Byars:

$$E = E_0(1 - bp + cp^2) \quad (5.5)$$

donde p es la porosidad, E_0 es el módulo elástico para el material compacto y b y c son parámetros de ajuste y p es la porosidad expresada como $\frac{V_{poro}}{V_{total}}$.

Los resultados en los ensayos de flexión, muestran que los dispositivos de acero poroso utilizados en este trabajo alcanzan valores de 130 MPa. Este valor es considerablemente más pequeño que la tensión de rotura obtenida del material sólido situado en 584 MPa [15]. Sin embargo, este valor parece suficientemente alto para soportar el esfuerzo mecánico durante la consolidación de la fractura del hueso. Ciertamente, el valor de 130 MPa no está lejos del valor de rotura por tracción soportado por los huesos humanos largos, en torno a los 176 MPa [16] o los 90 - 170 MPa del hueso cortical [13,17].

Finalmente, de los ensayos de torsión se obtienen los valores de esfuerzo de torsión (T_{max}), para el acero poroso de $40,46 \pm 0,61$ N·m y para el acero sólido de $100,77 \pm 1,90$ N·m. Conforme a la expresión:

$$\tau_{max} = \frac{T_{max} \cdot R_{ext}}{I} \quad (5.6)$$

donde T_{max} es el esfuerzo de torsión, R_{ext} el radio exterior del tubo, I área del momento de inercia para una sección circular hueca y τ_{max} la resistencia a la cizalladura .

Los valores de resistencia a la cizalladura, τ_{max} , calculados son de 1651 MPa y 1180 MPa. En ambos casos la máxima fuerza es superior a los valores dados para el hueso cortical femoral [13,16].

En resumen, con los resultados obtenidos, se deduce que el dispositivo de acero poroso en las dimensiones utilizadas puede usarse como prótesis de fijación ya que sus propiedades mecánicas no están comprometidas y por lo tanto el dispositivo podría emplearse como sistema de fijación en la curación de fracturas externas a la vez que sirve como dispositivo de almacenamiento de material poroso /fármaco y por lo tanto de sistema de liberación de fármacos.

5.2. Liberación desde lecho empaquetado

Los materiales utilizados como lecho empaquetado van a ser MCM-41, y SBA-15 cuyas características fueron descritas en el apartado 2.1.1.3 y microesferas mesoporosas (MEM) (apartado 2.2.1.2.3). Las distintas propiedades microestructurales (el tamaño, forma de la partícula y el tamaño de poro) de los materiales permitirán comparar entre ellos su capacidad para la liberación de fármacos.

5.2.1. Materiales utilizados

5.2.1.1. MCM-41

5.2.1.1.1. Microscopia electrónica de barrido (SEM) y microscopia electrónica de transmisión (TEM)

La figura 5.4 muestra las imágenes SEM del material sintetizado correspondiente a la estructura MCM-41(apartado 2.2.1.1.2) donde el tamaño de partícula es de 647 ± 78 nm.

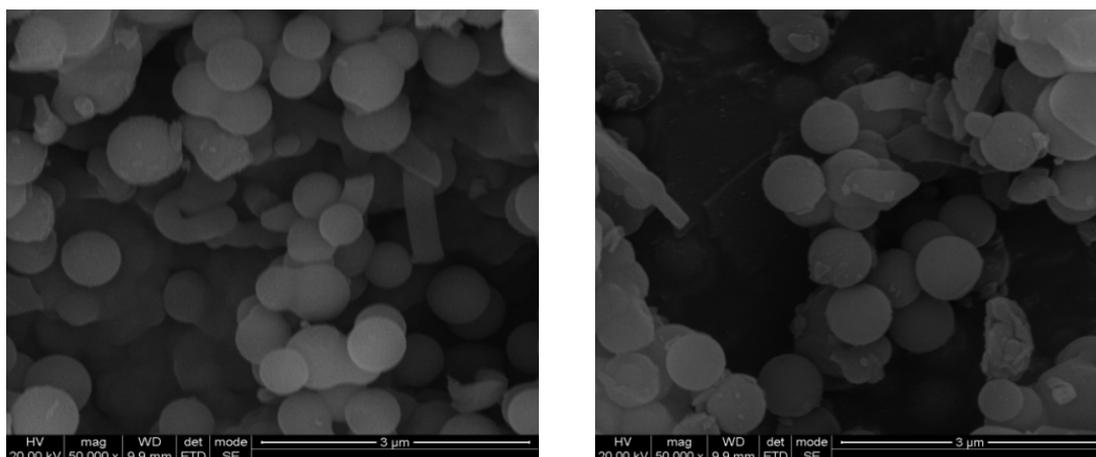


Figura 5.4.- Fotografías SEM de las partículas de MCM-41.

Las imágenes obtenidas mediante TEM, revelaron que las partículas presentaban una estructura porosa, cuyos poros forman una estructura regular, en forma de canales unidireccionales a lo largo de toda la partícula, figura 5.5.

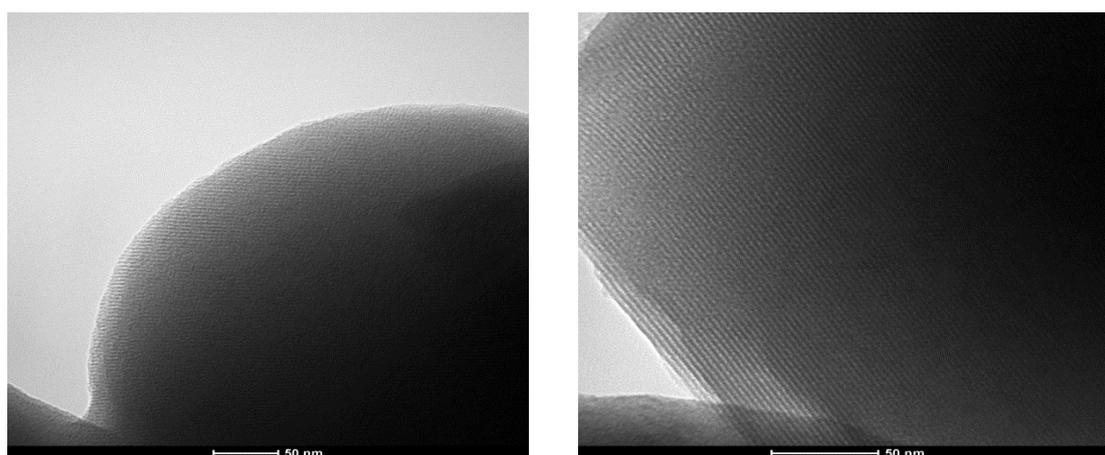


Figura 5.5.- Fotografías TEM de las microsferas mesoporosas de MCM-41.

5.2.1.1.2. Difracción de rayos X (XRD)

En la figura 5.6 se muestra el patrón de difracción XRD de las partículas de MCM-41, dicho patrón muestra 4 picos, los cuales de acuerdo a lo descrito en la literatura corresponden con las reflexiones de los índices de Miller de (1 0 0) a 2,58°, (1 1 0) a 4,45°, (2 0 0) a 5,1° y (2 1 0) a 6,73° [18,19].

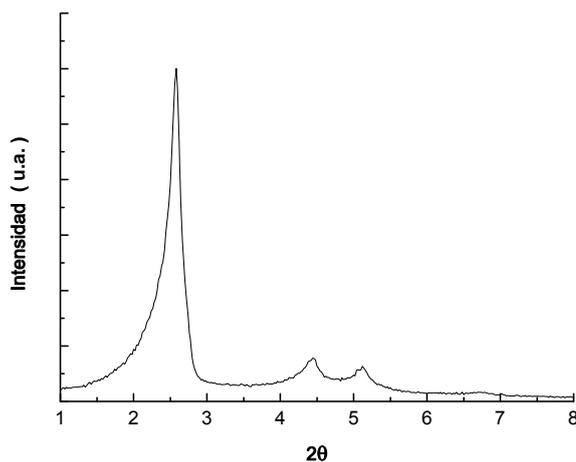


Figura 5.6.- Patrón de difracción de rayos X de ángulo bajo de las partículas de MCM-41.

5.2.1.1.3. Análisis de superficie específica mediante adsorción de N₂ (método BET)

Los datos obtenidos de la de adsorción de N₂ pueden ser tratados para realizar, entre otros, el análisis BET (Brunauer-Emmett-Teller) para calcular la superficie específica, el método t-plot para calcular el área microporosa y externa, y el análisis BJH (Barret-Joyner-Halenda) de la rama de desorción para conocer la distribución de mesoporos.

Los resultados obtenidos a partir de las isothermas de adsorción de nitrógeno muestran un comportamiento con ausencia de histéresis entre los procesos de adsorción-desorción. Para la MCM-41 (figura 5.7), se destaca un escalón a valores de $P/P_0 = 0,2 - 0,3$ que pudiera estar asociado a la condensación capilar de los canales de MCM-41. El incremento en la cantidad de nitrógeno adsorbido para valores de P/P_0 mayores que 0,9 podría deberse a la condensación capilar en los poros secundarios entre las partículas.

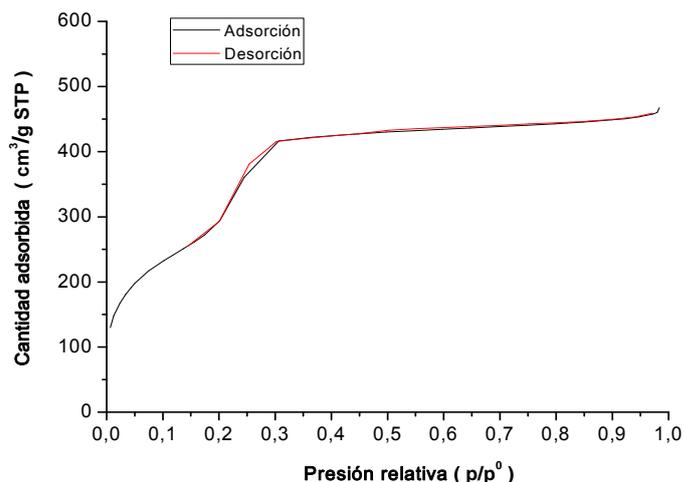


Figura 5.7.- Isoterma de adsorción-desorción de N_2 obtenido para el material MCM-41.

A partir del análisis BET (Brunauer-Emmett-Teller) de adsorción de nitrógeno, se determinaron los parámetros característicos para este material que se muestran a continuación en la tabla 5.1.

Tabla 5.1.- Parámetros característicos del material MCM-41

Material	Diámetro de poro (nm)	Volumen de poro (cm^3/g)	Área Superficial BET (m^2/g)
MCM-41	2,34	0,71	1217

El valor del área superficial obtenido en este trabajo, $1217 m^2/g$ es un poco más elevado que los deducidos en la literatura para MCM-41 que estarían en el rango entre $1000 - 1120 m^2/g$ [20-22]. Este valor tendría sentido ya que el diámetro de poro determinado es un poco más pequeño que los reflejados por [19,21] de unos 3 nm y por lo tanto al disminuir el tamaño de poro aumentaría el área superficial. El tamaño de poro puede disminuir si durante la síntesis el pH se vuelve ligeramente más básico, lo que provoca que la micela se contraiga y se genere un poro más pequeño [23,24].

5.2.1.2. *Microesferas mesoporosas (MEM)*

El método de obtención de la MEM ya está descrito en el apartado 2.2.1.1.3 y éste es el seguido por Lebedev y cols. [25] para la obtención del MCM-48, aunque en este caso, se varió la cantidad de TEOS para intentar modificar el tamaño de partícula con lo que también se modificó la estructura de la partícula.

5.2.1.2.1. Microscopia electrónica de barrido (SEM) y microscopia electrónica de transmisión (TEM)

Siguiendo la receta de Lebedev y cols. [25] el tamaño de las esferas variaban en un rango de 500 a 1500 nm, por lo que se optó por ver qué ocurría si se variaba la cantidad de TEOS en la síntesis. Según la receta de Zeng y cols. [26] se puede modificar el tamaño de partícula de la MCM-41 modificando la cantidad de TEOS. De esta manera:

Duplicando la cantidad de TEOS, figura 5.8, el tamaño de partícula se situaba en el rango de 860 ± 190 nm. Sin embargo al dividir por dos la cantidad de TEOS de la receta inicial de Lebedev y cols. [25], el tamaño de partícula fue de 440 ± 140 nm, figura 5.9.

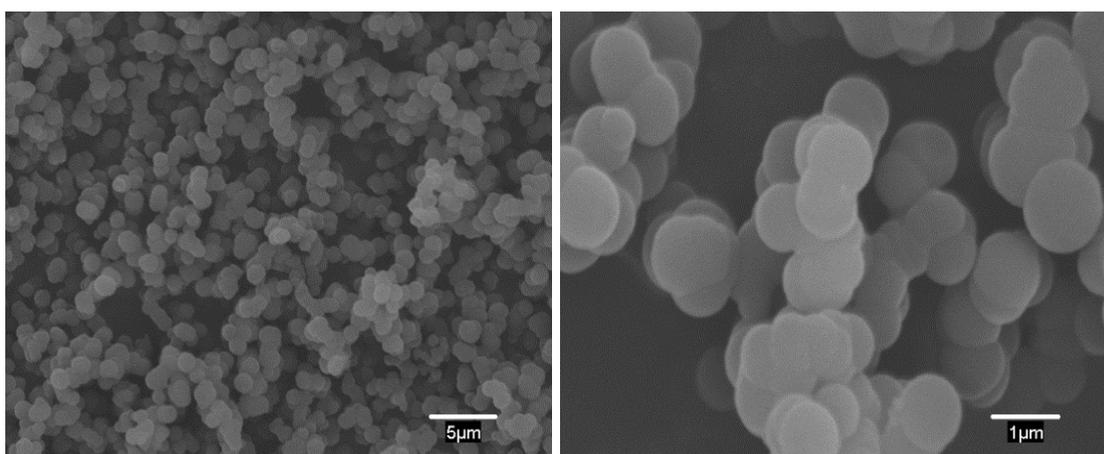


Figura 5.8.- Fotografías SEM de las microesferas mesoporosas de tamaño 860 ± 190 nm.

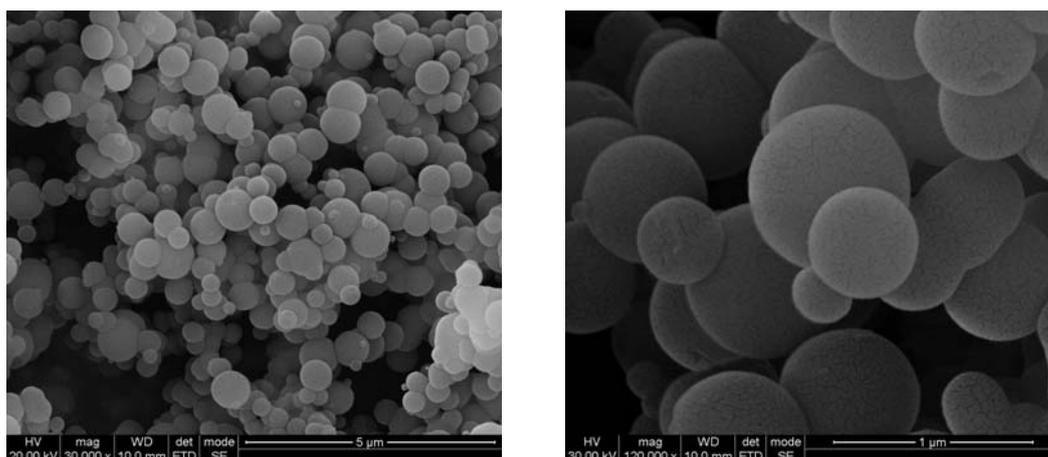


Figura 5.9.- Fotografías SEM de las microsferas mesoporosas de tamaño 440 ± 140 nm.

Se observa en ambos casos que existe aglomeración de esferas en algunas zonas. En estudios con ibuprofeno como fármaco, se ha llegado a la conclusión de que estos aglomerados no tienen influencia en la carga de fármaco comparado con la influencia de las partículas dispersas, aunque sí podría tenerla a la hora de la liberación [27]. En el presente estudio, este hecho no tiene mucha importancia puesto que la liberación se realiza desde un lecho empaquetado y la aglomeración de las partículas es inevitable.

Una vez vistos los resultados, se tomó la decisión de trabajar con la receta de Lebedev y cols. [25] pero con la mitad de TEOS (ver apartado 2.2.1.1.3) ya que proporcionaba el menor tamaño de partícula además de la menor dispersión en los valores de éste de todas las concentraciones analizadas.

Las imágenes obtenidas mediante TEM revelaron que las partículas presentaban una estructura ordenada de poros complejos a lo largo de toda ella tal y como se observa en la figura 5.10. Las imágenes de TEM muestran que el contraste difiere entre el núcleo de las partículas y los bordes. Dicho fenómeno puede estar atribuido a un mecanismo de crecimiento mediante semilla [25], según el cual los núcleos de las partículas pudieran contener una semilla sobre la que crecen las partículas. En este caso, el cristal de MCM-48, con la forma de un octaedro truncado, hará la función de semilla sobre la que los poros crecerán despacio mediante la deposición de agregados de micelas.

Las caras harán el papel de sustratos donde los poros cilíndricos crecerán por capas de una manera perpendicular al núcleo conforme a la simetría del plano [25].

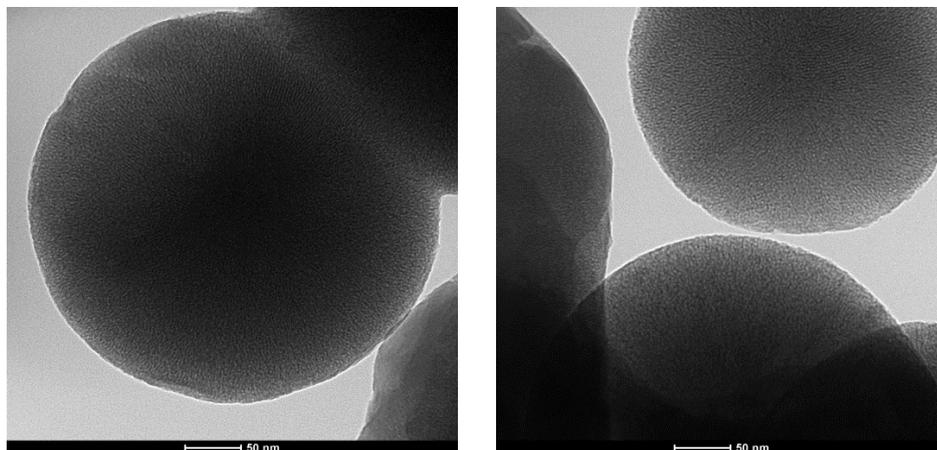


Figura 5.10.- Fotografías TEM de las microesferas mesoporosas.

En las fotografías TEM se pueden apreciar las dos fases de las que se habla. El núcleo de la partícula tiene estructura cúbica de MCM-48 desde donde salen poros longitudinales típicos de la MCM-41. Aunque según las imágenes, dichos poros tampoco llegarían hasta el final de la partícula y acabaría formándose otra vez la estructura del MCM-48.

5.2.1.2.2. Difracción de rayos X (XRD)

El patrón de difracción de rayos X de éstas partículas se presenta en la figura 5.11 y muestra un único pico de Bragg que corresponde a la reflexión (2 1 1) a $2,79^\circ$ [25]. El aspecto amplio del pico refleja cierta pérdida en el orden de la estructura, lo que pudo ocasionar el solapamiento de otros picos típicos presentes en los patrones de difracción del MCM-48, relativos al grupo espacial $la3d$ característico en este tipo de material [18]. También podría asociarse a la existencia de otra fase distinta a la MCM-48, muy posiblemente MCM-41 [25] y que según Macías [28] al tratarse de una partícula esférica ese pico podría tratarse de la reflexión de (1 0 0) de MCM-41. No obstante, la simetría del pico centrado en $2,79^\circ$ podría indicar que la mayor parte de su estructura es MCM-48.

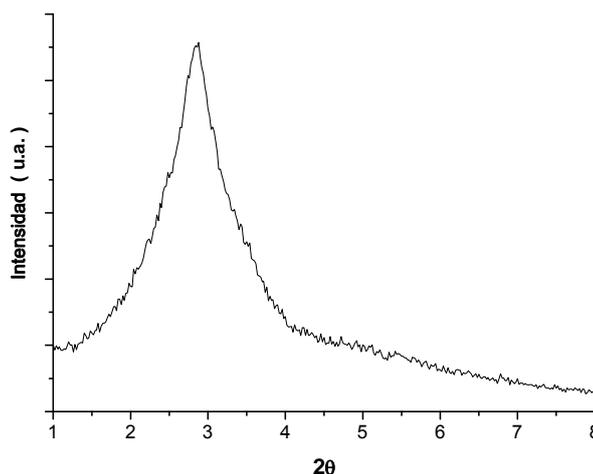


Figura 5.11.- Patrón de difracción de rayos X de ángulo bajo de las microesferas mesoporosas de tamaño 440 ± 140 nm.

5.2.1.2.3. Análisis de superficie específica mediante adsorción de N₂ (método BET)

Según se puede observar en la isoterma de la figura 5.12 no existe histéresis entre los procesos de adsorción-desorción y además existe un marcado incremento en el volumen de N₂ adsorbido debido a la condensación capilar, el punto de inflexión de dicha condensación ocurre a una presión relativa $P/P_0 = 0,26$ que concuerda con los valores indicados en la literatura

para la MCM-48 [29]. Por otra parte, el incremento en la cantidad de nitrógeno adsorbido para valores de P/P_0 superiores a 0,9 podría deberse igualmente a la condensación capilar en los poros secundarios entre las partículas.

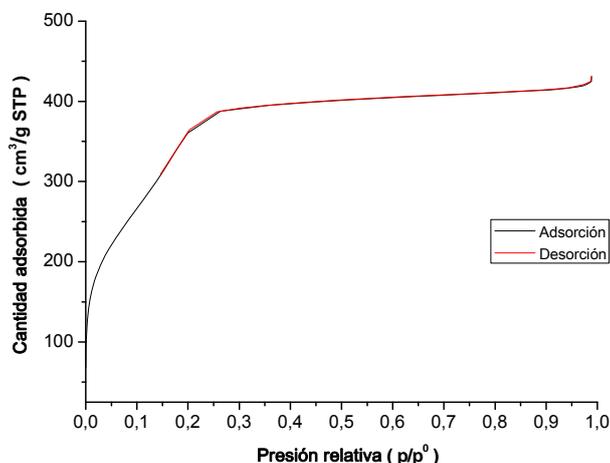


Figura 5.12.- Isoterma de adsorción-desorción de N_2 de las microesferas mesoporosas.

A partir de las medidas de adsorción de nitrógeno, se determinaron los parámetros característicos para este material que se muestran a continuación en la tabla 5.2. Los resultados son algo más bajos en cuanto a diámetro y volumen que lo indicado en la literatura por [30,31] pero similares a los obtenidos por [18,32].

Tabla 5.2.- Parámetros característicos de las microesferas mesoporosas

Material	Diámetro de poro (nm)	Volumen de poro (cm^3/g)	Área Superficial BET (m^2/g)
MEM	2,3	0,65	1105

Todos los resultados se podrían explicar como consecuencia de que la MEM está formada por una mezcla de dos fases MCM-48 y MCM-41, y no de MCM-48 pura [25]. El área superficial de la MCM-41 se situaría alrededor de los 1000 - 1120 m^2/g [20-22] mientras que la MCM-48 está en torno a los 1100 - 1163 m^2/g [21,33], con lo que el valor se situaría en un valor intermedio. El diámetro de poro también está en un valor más próximo al indicado para MCM-48 que es 2,5 nm [34] que de los 3 nm de MCM-41 [20,21].

5.2.1.3. SBA-15

El método de obtención de la SBA-15 seguido por Yu y cols. [35], ya está descrito en el apartado 2.2.1.1.4.

5.2.1.3.1. Microscopia electrónica de barrido (SEM) y microscopia electrónica de transmisión (TEM)

Las fotos SEM de la figura 5.13 muestran que el material sintetizado SBA-15 de aspecto similar a los indicados en la bibliografía [36].

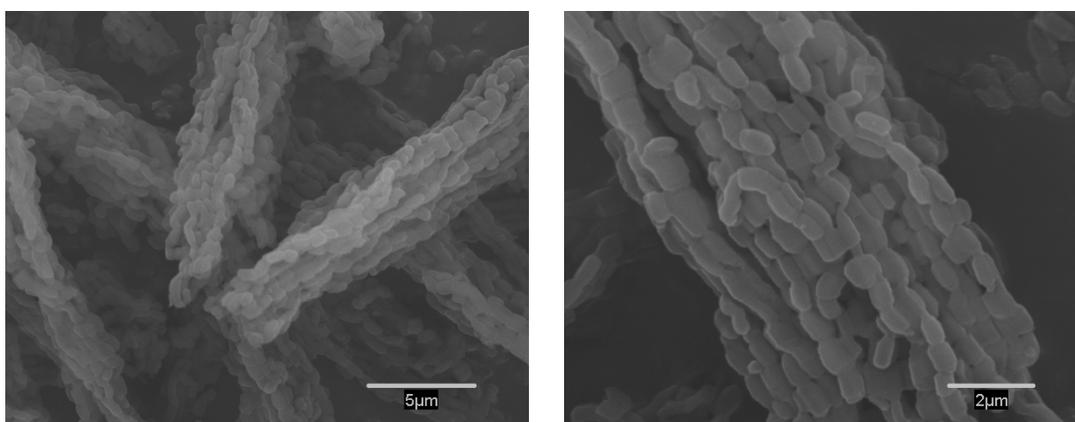


Figura 5.13.- Fotografías SEM de las partículas de SBA-15.

En la figura 5.14 aparecen las fotografías TEM donde se aprecia la formación de la estructura hexagonal de la SBA-15 con canales rectos mesoporosos altamente ordenados.

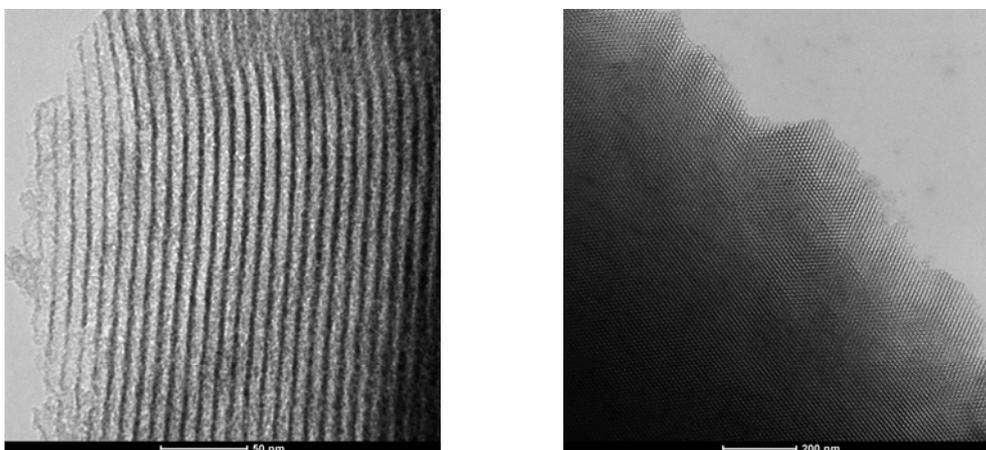


Figura 5.14.- Fotografías TEM de las partículas de SBA-15.

5.2.1.3.2. Difracción de rayos X (XRD)

El patrón de difracción de rayos X de éstas partículas, figura 5.15, presentó tres picos de Bragg, que corresponden a la reflexión (1 0 0) a $0,89^\circ$, (1 1 0) a $1,58^\circ$ y (2 0 0) a $1,88^\circ$. Este tipo de perfiles verifican la formación de la estructura hexagonal de la SBA-15 con canales mesoporosos altamente ordenados [37-39].

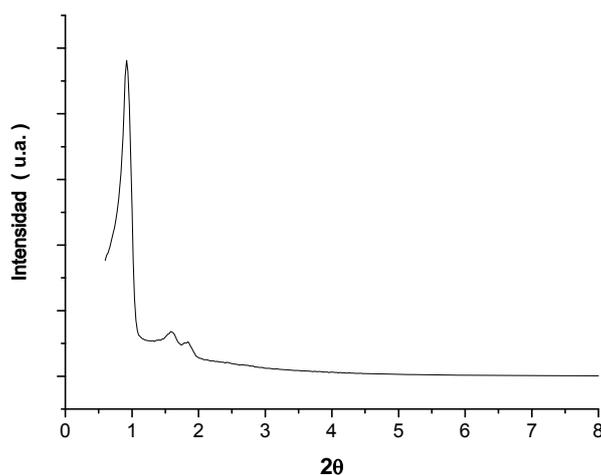


Figura 5.15.- Patrón de difracción de rayos X de ángulo bajo de las partículas de SBA-15.

5.2.1.3.3. Análisis de superficie específica mediante adsorción de N₂ (método BET)

La isoterma de adsorción-desorción de N₂ para la SBA-15 sintetizada se muestra en la figura 5.16. Como se puede observar, es la típica isoterma tipo IV con una histéresis en el rango de $P/P_0 \sim 0,6 - 0,8$ característica de la presencia de poros bien ordenados en estructura hexagonal 2D [38,40].

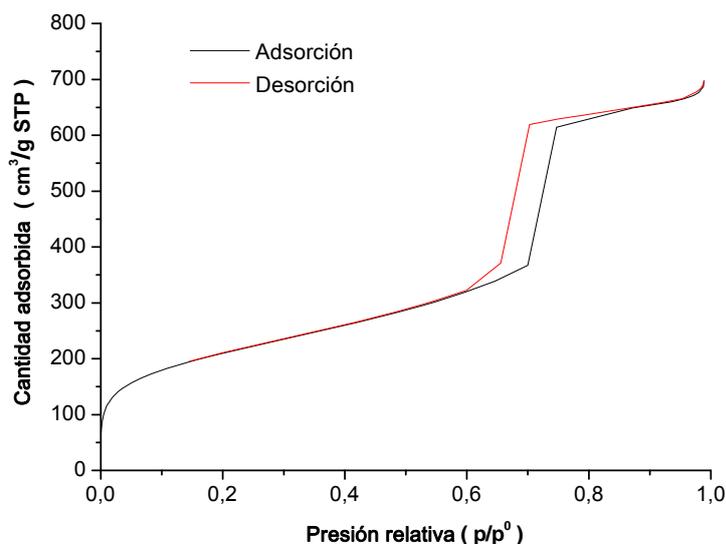


Figura 5.16.- Isoterma de adsorción de N_2 del material SBA-15.

A partir de las medidas de adsorción de nitrógeno, se determinaron los parámetros característicos para este material que se muestran en la tabla 5.3. En este caso, estos resultados son similares a los obtenidos por [37,38,41-43].

Tabla 5.3.- Parámetros característicos del material SBA-15

Material	Diámetro de poro (nm)	Volumen de poro (cm^3/g)	Área Superficial BET (m^2/g)
SBA-15	6,56	1,05	748

5.2.2. Carga de fármaco Linezolid y lavado del material resultante

El proceso de carga del Linezolid en el material poroso que ya se explicó en el apartado 2.2.1.2.2 es igual para todos los materiales estudiados, además de ser un proceso reproducible. En cuanto al lavado del material, se trabajó con tres métodos distintos:

- Método 1: Sin lavar el material tras las adsorción, con el fin de conseguir la mayor carga de fármaco posible: se utilizó para la MCM-41 y las MEM (apartado 2.2.1.2.3).

- Método 2: Lavado en centrífuga con 5 mL de SBF utilizado para las MEM con el fin de obtener una liberación de fármaco reproducible (apartado 2.2.1.2.3).
- Método 3: Lavado con 10 mL de SBF sobre el filtro. Como resultó éste el método más eficiente para obtener reproducibilidad en la liberación, se utilizó con las MEM y con la SBA-15 (apartado 2.2.1.2.3).

5.2.2.1. MCM-41

Para la carga de este material se puso en contacto 100 mg de MCM-41 con 10 mL de disolución hospitalaria de Linezolid (2 mg/mL). La carga de Linezolid expresada como $\left(\frac{M_F}{M_S+M_F}\right)$ fue del $8,48 \pm 0,35$ % (N=4). Donde M_F es la masa de fármaco y M_S es la masa del material mesoporoso.

5.2.2.2. MEM

Al igual que en el apartado anterior, se puso en contacto 100 mg de material de microesferas mesoporosas (MEM) con un volumen de 10 mL de disolución hospitalaria de Linezolid (2 mg/mL), sin lavado posterior (método 1). Con este método se obtuvo una carga de Linezolid del $8,88 \pm 0,54$ % (N=11).

Para comprobar de una forma cualitativa que el fármaco se había introducido en los poros y se había quedado adsorbido en la superficie del material se realizó un ensayo BET para compararlo con el material original. El ensayo se llevó a cabo desgasificando la muestra a 60 °C durante 3 días a 10 mbar de presión, suponiendo que a esa temperatura, presión y durante esos días el fármaco no sufriría daño ni se eliminaba de los poros y finalmente, fuese lo único que quedase en el interior de los poros [44,45]. Los resultados que se muestran en la tabla 5.4, indicando los cambios inducidos por la carga del Linezolid.

De acuerdo a la tabla 5.4 como puede observarse hay un cambio significativo en los valores de área superficial y volumen de poro, lo que es

indicativo de que se ha conseguido introducir disolución de Linezolid en el interior de los poros del material.

Tabla 5.4.- Parámetros para las microesferas mesoporosas (MEM)

Material	Diámetro de poro (nm)	Volumen de poro (cm ³ /g)	Área Superficial BET (m ² /g)
MEM	2,3	0,65	1105
MEM + Linezolid	2,1	0,28	574

Cuando se utilizó el método 2 de lavado los resultados de carga de Linezolid fueron del $6,57 \pm 0,14$ % (N=3). En cambio, mediante el método 3 de lavado, la carga de Linezolid se redujo hasta el $5,91 \pm 0,18$ % (N=3).

Debido a la baja cantidad de Linezolid que se adsorbe de la disolución inicial 2 mg/mL, se probó a variar el tiempo en el que el material poroso estuviera en contacto con la disolución hospitalaria de Linezolid pasando de 12 a 50 horas. La carga obtenida con este último tiempo de carga, sin lavado posterior, fue de $8,03 \pm 0,21$ % (N=3) lo que indica que el aumento considerable del tiempo de contacto entre el material mesoporoso y la disolución hospitalaria, no cambia la adsorción del fármaco en el material, incluso es ligeramente más bajo ya que pasa del $8,88 \pm 0,54$ al $8,03 \pm 0,21$ %. Esto indicaría que a las 12 h ya se habría alcanzado la saturación del material mesoporoso.

5.2.2.3. SBA-15

El tiempo y el lavado óptimo (método 3) para las microesferas mesoporosas (MEM), también se seleccionaron para la carga y el lavado del SBA-15. Los resultados en cuanto a la adsorción de Linezolid son parecidos aunque ligeramente superiores a las MEM, $6,53 \pm 0,32$ % (N=3), lo que parece normal debido al mayor tamaño de poro de la SBA-15 con respecto al de las MEM. Este comportamiento se correlaciona con algunos resultados obtenidos en la bibliografía [46] donde al comparar la carga obtenida de naproxeno en los materiales MCM-41 y SBA-15 sin funcionalizar, se obtiene una mayor carga en éste último debido a que el tamaño de poro es casi el doble en el SBA-15. En

esta línea, otros autores [47] argumentan que un pequeño aumento de tamaño de poro de 1,8 a 2,5 nm en MCM-41 implica un aumento de carga de ibuprofeno. Sin embargo una gran diferencia en dicho tamaño (de 3,8 nm en MCM-41 a 9 nm en SBA-15) provoca una disminución en la carga de alendronato. Este resultado se achaca a una disminución entre la interacción entre las distintas moléculas de fármaco y entre las moléculas de fármaco y la pared del material poroso al ser la relación de tamaño entre el fármaco y el diámetro de poro demasiado grande. Por lo tanto aducen que el fármaco, al igual que difunde rápidamente al interior del poro lo hace también hacia el exterior creándose un equilibrio con la disolución farmacológica. En este caso sería la superficie específica la que controlaría la adsorción del fármaco y como el material de SBA-15 posee una menor superficie específica la adsorción de alendronato sería menor. Por otra parte, dado que el Linezolid es una molécula mayor (1,50 x 0,45 nm) [48] que el alendronato (0,61 x 0,55 nm) [47] y que el tamaño de poro del material SBA-15 utilizado es de 6 nm frente a los 9 nm utilizado por [47], este efecto no se vería tan marcado en el presente trabajo.

Para el material SBA-15 cargado de fármaco, también se realizó un ensayo BET para compararlo de forma cualitativa con el material original. El ensayo se llevó a cabo a 60 °C durante 3 días a 10 mbar de presión con la suposición de que con éstas condiciones de desgasificación únicamente quedara el fármaco en el interior del poro [44,45]. Al igual que en el caso anterior, se ha conseguido introducir disolución hospitalaria en el interior de los poros y existe una adsorción superficial de la disolución de Linezolid y un llenado de los poros. Los resultados se muestran en la tabla 5.5.

Tabla 5.5.- Parámetros obtenidos del material SBA-15

Material	Diámetro de poro (nm)	Volumen de poro (cm ³ /g)	Área Superficial BET (m ² /g)
SBA-15	6,56	1,05	748
SBA-15+Linezolid	6,41	0,85	347

5.2.2.4. Resumen sobre la carga de Linezolid

Como era de esperar para un fármaco como el del Linezolid, con dimensiones 1,50 x 0,45 nm [48] la mayor carga de fármaco se obtuvo para el material SBA-15 que presenta el mayor diámetro de poro (6,56 nm) a diferencia del MCM-41 y de las microesferas porosas cuyos poros de 2,34 y 2,3 nm, respectivamente son ligeramente mayores que la mayor dimensión del fármaco. Este comportamiento concuerda con lo indicado en la literatura [46,49]. Para comparar todos los materiales, en la siguiente tabla se indica la carga inicial obtenida previa al lavado.

Tabla 5.6.- Resumen de carga de fármaco adsorbido previo al lavado.

Material	Diámetro de poro (nm)	Volumen de poro (cm ³ /g)	Área Superficial BET (m ² /g)	% de Linezolid en el material $\left(\frac{M_F}{M_S+M_F}\right)^*$
MCM-41	2,34	0,71	1217	8,48 ± 0,54
MEM	2,3	0,65	1105	8,88 ± 0,35
SBA-15	6,56	1,05	748	8,11 ± 0,47

* M_F =masa de fármaco, M_S = masa de sólido mesoporoso

Si se comparan las partículas MCM-41 y MEM, éstas últimas aunque con menor tamaño de poro, menor superficie específica y menor volumen de poro, obtienen una carga de fármaco mayor. Este resultado se debe a que las MEM están formadas por dos fases, la MCM-48 como predominante y la MCM-41. La primera de ellas, con una estructura tridimensional, es la que favorece la adsorción del Linezolid sin bloquear la entrada del poro frente a una matriz hexagonal 2D de poros cilíndricos largos 1D, que dificulta la difusión del Linezolid hacia el interior del poro, sobre todo cuando la molécula de Linezolid se queda adsorbida en la boca del poro. Esto se correlaciona con lo observado por otros autores en los casos del carvedilol [22] e ibuprofeno [50]. Sin embargo, las estructuras con poros más cortos e interconectados favorecen que el ibuprofeno alcance los centros activos y por lo tanto aumente la carga de ibuprofeno [50]. También hay que indicar la influencia que tiene el tamaño de las partículas de MCM-41 en torno a los 647 ± 78 nm que posee poros rectos más largos que los poros que posean las MEM de tamaño menor (~440 nm) y por lo tanto, la difusión del fármaco a través de ellos está más impedida.

5.2.3. Cinética de liberación en SBF del fármaco adsorbido en el material poroso

Una vez que el Linezolid fue cargado en el material, el siguiente paso fue evaluar su cinética de liberación. Para ello, como se explicó en el apartado 2.2.1.1.5 se diseñó un dispositivo sencillo de acero poroso 316L que simularía un sistema de fijación hueco. El material fue cargado introduciéndolo en el interior de dicho dispositivo y éste, a su vez, fue sumergido en fluido biológico simulado (SBF) a 37 °C. A continuación, la concentración de fármaco en el SBF fue medida en función del tiempo.

La cinética de liberación del fármaco en SBF a 37 °C, se llevó a cabo mediante la medida de la variación de la absorbancia de la luz incidente con el tiempo, mediante un espectrofotómetro UV-visible (apartado 2.2.3.2). Para ello se aplicó la Ley de Beer-Lambert, que permite relacionar los valores de absorbancia medidos con la concentración y se tuvo en cuenta que la molécula de fármaco, absorbe a una longitud de onda de 251 nm. Las medidas se realizaron en cortos intervalos de tiempo al principio de la liberación, por tratarse de un proceso relativamente rápido, y posteriormente se redujo su frecuencia de medida en las etapas más avanzadas de la liberación.

5.2.3.1. MCM-41

En la tabla 5.7, se muestran los principales resultados obtenidos para la MCM-41. Los resultados son los obtenidos del material poroso cargado y sin lavado posterior, la carga de material de cada experimento es de $37,27 \pm 0,21$ mg. La liberación del fármaco es muy baja y en 45 horas se corresponde con un $12,81 \pm 0,84$ % del fármaco disponible inicialmente en el material mesoporoso.

Tabla 5.7.- Resultados de la liberación desde el dispositivo cargado de MCM-41+ Linezolid sin lavado posterior (método1) en 50 mL de SBF en 98 horas

% inicial de Linezolid en el material $\left(\frac{M_{F0}}{M_s+M_{F0}}\right)$	Linezolid disponible M_{F0} (μg)	% de Linezolid liberado
8,92	3345	13,86
8,63	3193	13,07
8,03	2995	10,20

En la figura 5.17 se muestran las gráficas obtenidas de la cinética de liberación del Linezolid desde la MCM-41.

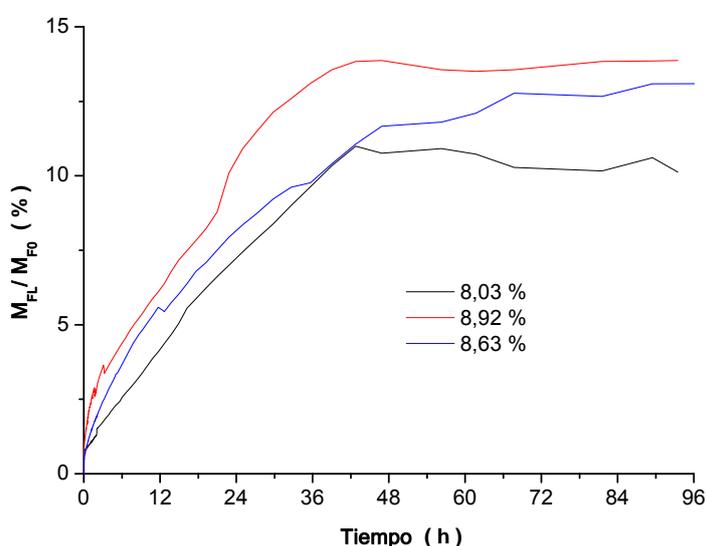


Figura 5.17.- Cinética de liberación de Linezolid en 50 mL de SBF a 37 °C. Dispositivo cargado de MCM-41+Linezolid sin lavado posterior (método 1).

Donde, M_{F0} = Masa fármaco inicial, M_{FL} = Masa fármaco liberado.

Las curvas representadas en la figura 5.17 de la liberación de fármacos desde matrices porosas, se ajustan a las funciones descritas por Noyes-Whitney que se corresponden con la difusión de las moléculas a través de una estructura mesoporosa ordenada [44,51-53]:

$$C_t = C_{\infty} \cdot (1 - e^{(-k \cdot t)}) \quad (5.7)$$

donde C_t es la concentración de fármaco liberado en el instante t , C_∞ es la máxima concentración de antibiótico liberada y k (h^{-1}) es la constante de la cinética de liberación. Los parámetros característicos de la liberación de Linezolid desde MCM-41 obtenidos de estas gráficas son: $C_\infty = 7,15 \pm 0,65$ $\mu\text{g/mL}$, $k = 0,09 \pm 0,03$ h^{-1} y $R^2 = 0,905$.

Un dato que llama la atención y más después de comparar los resultados con los demás materiales es la pequeña cantidad de Linezolid que se libera al medio, que alcanza una media de $12,81 \pm 0,84$ % del cargado inicialmente a las 40 horas, y que se mantiene prácticamente constante incluso hasta las 100 horas. Este comportamiento podría deberse a la estructura organizada hexagonal de largos poros unidireccionales de un tamaño próximo al del linezolid ($1,50 \times 0,45$ nm), que pudieran verse obstruidos por el mismo fármaco, dificultando la difusión de éste a través del poro. Este efecto se observa también en la liberación de la aspirina [54] y del ibuprofeno [50] desde una matriz mesoporosa de MCM-41.

5.2.3.2. MEM

De la misma manera que en el apartado anterior, se introdujeron $37,5 \pm 0,14$ mg de MEM cargadas de Linezolid y sin lavado posterior (método 1) en el dispositivo y se estudió su cinética de liberación. En este caso se ha observado un aumento considerable de la cantidad de fármaco liberado correspondiente una media del $62,89 \pm 7,70$ % del Linezolid disponible en el material mesoporoso. En la tabla 5.8, se muestran los principales resultados obtenidos para MEM.

Tabla 5.8.- Resultados de la liberación desde el dispositivo cargado de MEM+ Linezolid sin lavado posterior (método 1) en 94 horas

% inicial de Linezolid en el material $\left(\frac{M_{F0}}{M_s + M_{F0}}\right)$	Linezolid disponible M_{F0} (μg)	% de Linezolid liberado
9,84	3710	57,21
9,07	3401	65,79
8,74	3278	54,45
8,02	3059	74,09

En la figura 5.18. se muestran las gráficas obtenidas de la cinética de liberación del Linezolid desde las MEM.

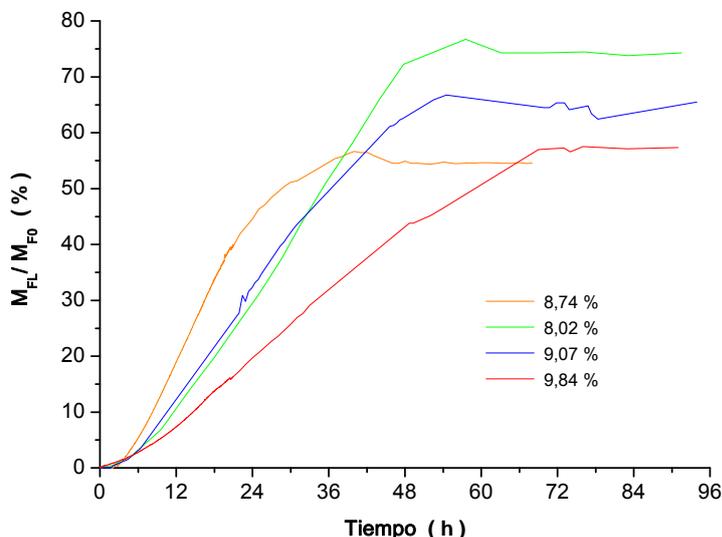


Figura 5.18.- Cinética de liberación de Linezolid en 50 mL de SBF a 37 °C. Dispositivo cargado de MEM+Linezolid sin lavado posterior (método 1) en 50 mL de SBF .

En este caso, se puede observar una clara relación entre la cantidad de fármaco cargado en el interior del dispositivo y la velocidad inicial de liberación de éste, siendo el dispositivo con mayor carga de fármaco el que libera más lentamente el fármaco contenido. En el caso del experimento de 37,5 mg (8,74 %) la liberación ha sido excepcionalmente rápida y como cabía esperar, las mayores concentraciones se alcanzan cuanto mayor es la cantidad de fármaco disponible en el material poroso.

A la vista de estos resultados, se observa que no existe reproducibilidad en los resultados. Esto puede ser debido a que la falta de lavado del material provoca que la liberación no se controle adecuadamente, de la misma manera que en la bibliografía indican que el método de impregnación de fármaco no conduce a una liberación controlada de éste [55]. Por este motivo, se decidió buscar una manera de lavar el material para corregir este inconveniente, por supuesto a costa, de perder algo de carga de Linezolid en el material.

La siguiente forma de lavado que se experimentó se denomina método 2 y aparece detallada en el apartado 2.2.1.2.3. Los resultados en este caso fueron los que se indican en la tabla 5.9. La cantidad de material cargado en el dispositivo es de $37,7 \pm 0,1$ mg.

Tabla 5.9.- Resultados de la liberación desde el dispositivo cargado de MEM+ Linezolid con lavado posterior (método 2) en 170 h

% inicial de Linezolid en el material $\left(\frac{M_{F0}}{M_s+M_{F0}}\right)$	Linezolid disponible M_{F0} (μg)	% de Linezolid liberado
6,67	2521	34,11
6,68	2518	34,74
6,37	2395	46,16

En la figura 5.19 se muestran las gráficas obtenidas de la cinética de liberación del Linezolid desde las MEM cuando se ha lavado con el método 2.

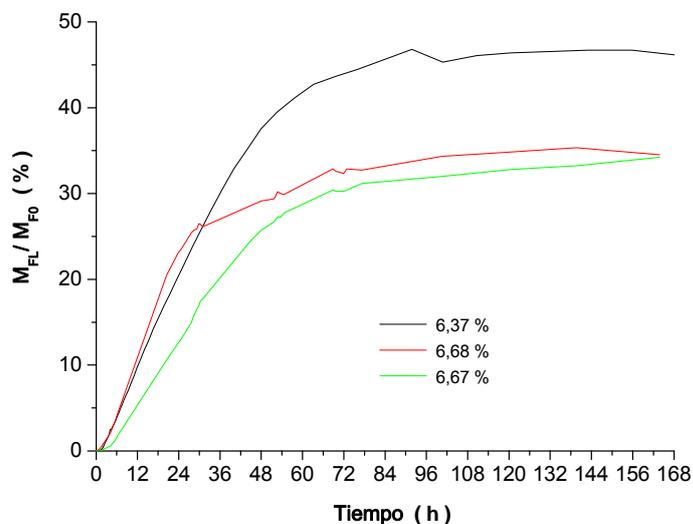


Figura 5.19.- Cinética de liberación de Linezolid en 50 mL de SBF a 37 °C. Dispositivo cargado de MEM+Linezolid con lavado posterior (método 2).

Siguiendo el método de lavado 2 y como era de esperar, se ha obtenido un material poroso menos cargado de Linezolid, aunque la tendencia observada sigue siendo la misma; cuanto mayor es la carga de fármaco más lenta es la liberación y menor porcentaje de fármaco es liberado. Por otro lado, también se alcanza una concentración de fármaco en SBF más pequeña, $19 \pm$

2,48 (µg/mL) frente a los 39,32 ± 4,11 (µg/mL), también ha sido más pequeña la cantidad de fármaco liberada 38,34 ± 5,53 % frente a los 62,89 ± 7,70 % obtenidos por el material sin lavado previo (método 1). Si se observa la figura 5.19, parece que la máxima cantidad de fármaco liberada se retrasa de las 55 horas para el material sin lavar del método 1 (figura 5.18) a las 75 horas del método 2 que podría estar relacionado con el Linezolid que se encuentra en poros más internos. Este efecto sería similar al de otros autores [56] que tras lavar nanoesferas mesoporosas de sílice tipo MCM-41 con ultrasonidos, observan una velocidad de liberación de verde de bromocresol más lenta, lo que atribuyen a la liberación del tinte situado más en el interior de la partícula ya que la mayor parte del cromóforo que está situado en la superficie y en la entrada de poros desaparece tras el lavado en ultrasonidos.

Por ello se llevó a cabo un tercer intento de lavado (método 3) que se describe en el apartado 2.2.1.2.3. Para una cantidad de material de 37,67 ± 0,05 mg, los resultados más importantes se encuentran reflejados en la tabla 5.10.

Tabla 5.10.- Resultados de la liberación desde el dispositivo cargado de MEM + Linezolid con lavado posterior (método 3) en 153 h

% inicial de Linezolid en el material $\left(\frac{M_{F0}}{M_s + M_{F0}}\right)$	Linezolid disponible M_{F0} (µg)	% de Linezolid liberado
6,17	2320	51,12
5,76	2187	54,25
5,80	2172	53,49

En la figura 5.20 se muestran las gráficas obtenidas de la cinética de liberación del Linezolid desde las MEM cuando se han lavado con el método 3. Se puede observar que se ha alcanzado una liberación reproducible y que se corresponde con el 52,95 ± 1,33 % del fármaco disponible en el material mesoporoso. También se observa como en los casos anteriores que para las mayores cargas de fármaco la velocidad de liberación de éste es más lenta. El método 3 de lavado implica un lavado más superficial del material mesoporoso, mientras que el lavado 2 consistía en un lavado más agresivo ya que se hace

en centrífuga. Es por esto, por lo que se obtiene una mayor liberación de fármaco con el lavado 3.

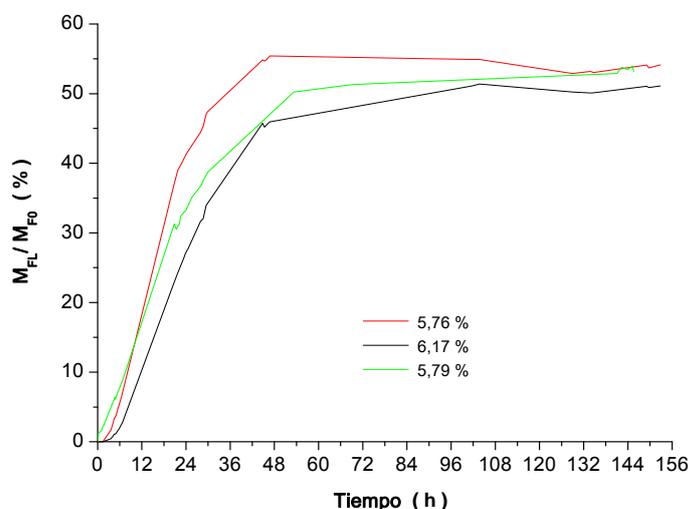


Figura 5.20.- Cinética de liberación de Linezolid en 50 mL de SBF a 37 °C. Dispositivo cargado de MEM+Linezolid con lavado posterior (método 3).

Al igual que con la MCM-41, las curvas de liberación de las MEM se ajustan a curvas de forma exponencial de la ecuación (5.7). Los parámetros característicos de la liberación de Linezolid desde MEM obtenidos de estas gráficas son: $C_{\infty} = 24,36 \pm 0,35 \mu\text{g/mL}$, $k = 0,04 \pm 0,01 \text{ h}^{-1}$ y $R^2 = 0,971$.

La liberación del fármaco ha sido más lenta que en el caso de la MCM-41 como puede observarse por el menor valor del parámetro k , posiblemente debido a que, al contrario que en el caso anterior, la mayor parte del fármaco se encuentra en el interior del poro y a que la difusión del fármaco a través del poro controla la velocidad de liberación de éste. La liberación de Linezolid desde la matriz de MEM ha sido mayor que en el caso de la MCM-41. Esto podría deberse a que dicha liberación estaría favorecida por la estructura de las partículas, mezcla de fases MCM-48 (3D) y MCM-41, que impediría que el Linezolid bloquease los poros y por otra parte, la fase MCM-41 de las microesferas mesoporosas estaría formada por poros de longitud menor que las partículas de MCM-41 pura lo que también favorece la liberación [50].

La máxima concentración que se hubiera podido alcanzar sería una media de aproximadamente 44,48 $\mu\text{g/mL}$. Sin embargo, en los tres casos estudiados se ha alcanzado una concentración máxima de $23,74 \pm 0,13 \mu\text{g/mL}$ y se ha liberado el $53,44 \pm 1,52 \%$ del fármaco disponible en el interior del dispositivo. La máxima concentración se alcanza entorno a las 50 horas. Podría pensarse que se ha alcanzado el límite de solubilidad del Linezolid en el medio que es aproximadamente 3 mg/mL [57], pero tan sólo se obtuvo un 1 %. Por lo tanto, el hecho de que se alcance una concentración máxima inferior a la que se podría obtener sería indicativo que se ha alcanzado un equilibrio entre el fármaco que permanece adsorbido en los mesoporos, la concentración en el espacio volumétrico del tornillo y la concentración en el SBF. Esta situación no se daría en un caso real en el que el medio biológico que rodearía al sistema de fijación estaría en continua renovación. Un ensayo en este sentido es el que se muestra en la siguiente figura 5.21 en la que el SBF ha sido renovado dos veces y se ha conseguido una liberación del 98 % del fármaco adsorbido en el material mesoporoso.

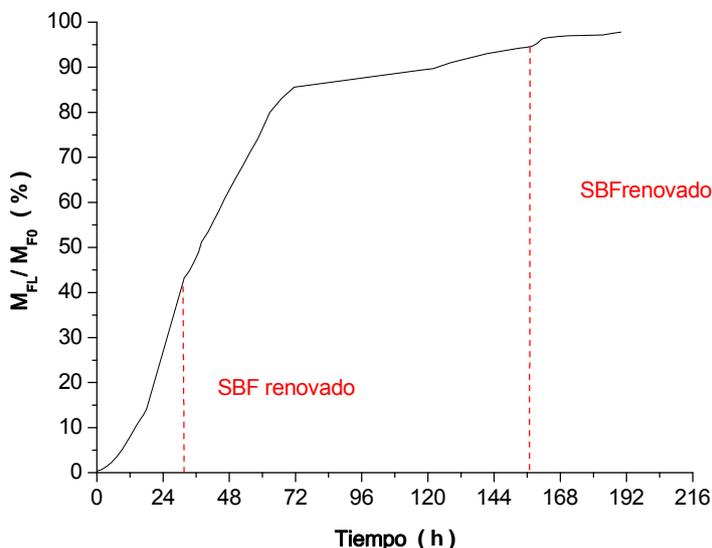


Figura 5.21.- Cinética de liberación de Linezolid en 50 mL de SBF a 37 °C. Dispositivo cargado de MEM+Linezolid sin lavado posterior (método 1) y renovación de SBF dos veces (2x50mL).

Un dato a tener en cuenta para las microesferas mesoporosas (MEM) es que independientemente del lavado utilizado, aquellos ensayos en los que la carga de fármaco era mayor son los que más han tardado en difundir al medio,

lo que puede deberse a que una mayor concentración de fármaco dificulte la difusión del mismo a través del poro puesto que existen mayor número de interacciones entre las propias moléculas de fármaco y las paredes del poro. Es decir, el tamaño de poro tiene un gran impacto en la liberación del Linezolid y la concentración de fármaco contenida dicta también la cinética de liberación. Por ejemplo, otros autores [23] detectan que cuanto mayor era la carga de heparina en el material de MCM-41, más lenta era su liberación. Esto era debido a que la heparina se encontraba en el interior del poro, aumentaban las interacciones entre las partículas y las paredes del poro y por lo tanto se retardaba su difusión al medio.

5.2.3.3. SBA-15

De la misma manera que en el apartado anterior, se utilizó el método de lavado 3 sobre SBA-15 cargada de fármaco, se introdujo en el dispositivo una carga de $36,78 \pm 0,76$ mg y se estudió la cinética de liberación. En la tabla 5.11, se muestran los principales resultados obtenidos para este material.

Tabla 5.11.- Resultados de la liberación desde el dispositivo cargado de SBA-15+ Linezolid con lavado posterior (método 3) 144 horas

% inicial de Linezolid en el material $\left(\frac{M_{F0}}{M_S+M_{F0}}\right)$	Linezolid disponible M_{F0} (μg)	% de Linezolid liberado
6,88	2580	68,52
6,63	2460	85,18
6,88	2442	57,68
6,09	2253	74,93

En la figura 5.22 se muestran las gráficas obtenidas de la cinética de liberación del Linezolid desde la SBA-15 cuando se ha lavado con el método 3.

Cabe destacar que durante las 36 primeras horas, la velocidad de la liberación en todos los casos es prácticamente la misma, siendo a partir de ese momento cuando aparecen diferencias, aunque manteniendo la forma de la curva. El porcentaje medio del fármaco liberado es del $71,58 \pm 9,98$ % que indica una fuerte desviación entre las liberaciones obtenidas con diferentes cargas. En todos los casos hay una tendencia a seguir liberando más fármaco

a lo largo del tiempo con ritmos muy bajos hasta que la liberación del fármaco sea completa. El comportamiento idéntico en todos los casos durante las primeras 35 horas, podría deberse a que el tamaño del poro (6 nm) no ofrece impedimento a la difusión del fármaco independientemente de la carga que contenga. A partir de las 35 horas, la velocidad disminuye hasta el vaciado completo de los poros del material, coincidiendo, el vaciado más lento con los materiales más cargados como ocurría en las microesferas mesoporosas.

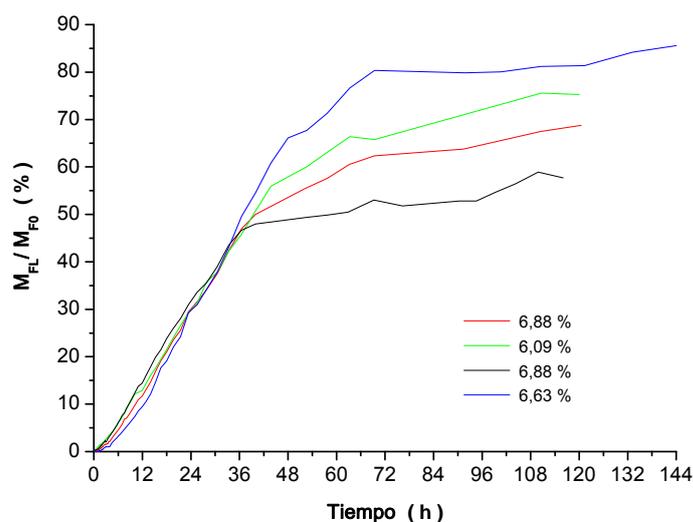


Figura 5.22.- Cinética de liberación de Linezolid en 50 mL de SBF a 37 °C. Dispositivo cargado de SBA-15+Linezolid con lavado posterior (método 3).

La concentración final alcanzada a las 50 horas en torno a los 36 µg/mL coincide con la concentración final obtenida por otros autores [51] situada en 30 µg/mL aunque en este caso el tiempo de liberación fue de 13 horas. Esta diferencia puede deberse perfectamente a la notable diferencia entre los ensayos de liberación. Los autores en [51] realizan la liberación de fármaco con discos de 150 mg de SBA-15 cargados de fármaco en un volumen de PBS de 3 mL a temperatura ambiente, mientras que el presente trabajo la cantidad de material es de ~ 37 mg (~ 6 % Linezolid) en un volumen de 50 mL de SBF a 37 °C.

Al igual que en los casos anteriores, las curvas de liberación de la SBA-15 se ajustan a curvas de forma exponencial dada por la ecuación (5.7). Los parámetros característicos de la liberación de Linezolid desde SBA-15

obtenidos de estas gráficas son: $C_{\infty} = 42,08 \pm 1,87 \mu\text{g/mL}$, $k = 0,02 \pm 0,002 \text{ h}^{-1}$ y $R^2 = 0,971$.

5.2.3.4. Cuarzo

Para comprobar que realmente existe un efecto de nuestros materiales porosos en la liberación del Linezolid se realizó el mismo experimento empapando cuarzo molido, un material no poroso, con la disolución hospitalaria de la misma manera que para los materiales anteriores.

La carga obtenida en este caso se muestra en la tabla 5.12:

Tabla 5.12.- Resultados de la liberación desde el dispositivo cargado de Cuarzo Linezolid con lavado posterior (método 3) en 109 h

Carga de Cuarzo + Linezolid (mg)	Linezolid disponible M_{F0} (μg)	% de Linezolid liberado
0,74	280	98,55
0,62	233	80,98
0,62	233	98,23
0,51	190	98,23

El interés radicaba en comprobar que la liberación inicial se producía en un tiempo muy pequeño y que era debida únicamente al fármaco intersticial entre las partículas de cuarzo como quedó demostrado. Los resultados se muestran en la figura 5.23, donde se observa que el 50 % del fármaco disponible se ha liberado en las primeras 12 horas.

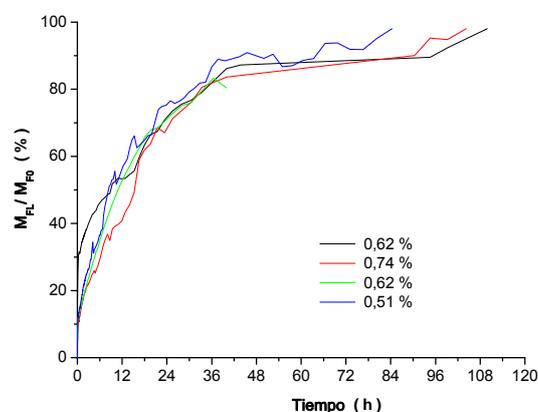


Figura 5.23.- Cinética de liberación de Linezolid en 50 mL de SBF a 37 °C. Dispositivo cargado de Cuarzo + Linezolid sin lavado posterior (método 1).

5.2.3.5. Disolución hospitalaria

Por último también se realizaron experimentos introduciendo 125 μL de la disolución hospitalaria directamente en el interior del tornillo y rápidamente medir la cinética de liberación. Como se observa en la figura 5.24 el 50 % del fármaco cargado es liberado en los 6 primeros minutos, alcanzándose el 90 % aproximadamente a las 3 horas. Al encontrarse el fármaco disuelto previamente, no existe ningún impedimento para difundir rápidamente a través de los macroporos del dispositivo. Sin embargo, si se utiliza Linezolid liofilizado en el interior del dispositivo, éste primero se tiene que disolver y después difundir a través de los macroporos del dispositivo, lo que hace disminuir la velocidad de liberación [58].

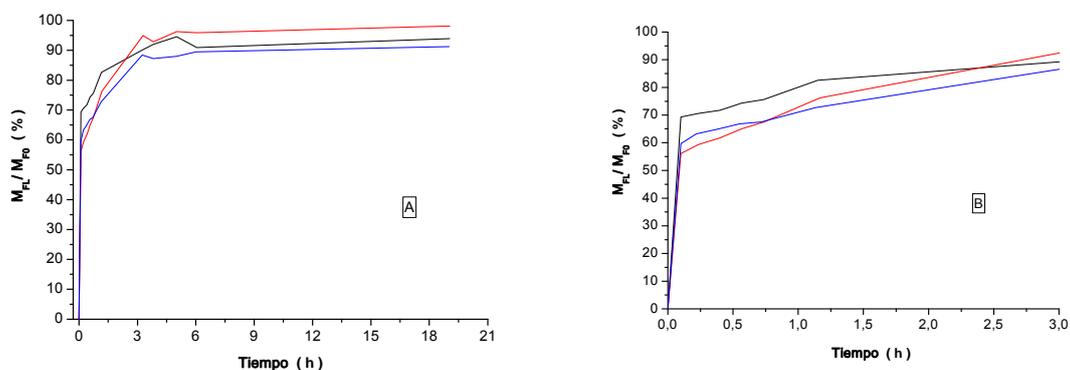


Figura 5.24.- Cinética de liberación de la disolución hospitalaria de Linezolid en SBF a 37 °C.

A) Experimento completo. B) Detalle de las 3 primeras horas.

Comparando todas las curvas, se ve que sin material poroso, la liberación es prácticamente instantánea en los 6 primeros minutos. El cuarzo que es un material no poroso, también libera el Linezolid intersticial de manera muy rápida alcanzando la concentración mínima inhibitoria o CMI de 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a los 48 minutos. Si se compara con la MCM-41 y MEM sin lavar (método 1), que son las dos que más cantidad de fármaco tienen cargado, alcanzan esta concentración en unas 5 y 6 horas, respectivamente y la SBA-15, con el método de lavado 3, alcanza la CMI en 5 h.

5.2.3.6. Resumen de la liberación de Linezolid en SBF

Comparando los dos materiales con el mismo tamaño de poro ~ 2,3 nm, MCM-41 y MEM, el material de microesferas mesoporosas (MEM) es el que libera más rápido y mayor cantidad de fármaco al medio. Del mismo modo que durante la carga, la estructura de la partícula influía en la adsorción, esta estructura también influye en la liberación. El material MCM-41 está formado por poros largos donde la difusión del fármaco por su interior está impedida, mientras que en el material MEM el Linezolid difunde a través de poros más cortos que no están bloqueados y favorecen su liberación [22,50,59].

En cuanto al material SBA-15, aunque el material ha adsorbido más Linezolid que los demás materiales y sus poros son más grandes y por lo tanto la difusión a través de ellos debería ser más rápida, su liberación es excepcionalmente lenta. Esto concuerda con las observaciones realizadas por Halamová y col. [46] y Qu y cols. [60] que atribuyen a los poros pequeños un papel importante para estabilizar el fármaco, restringiendo la formación de una estructura cristalina del fármaco dentro de ellos mientras se produce la adsorción. Las estructuras cristalinas que se forman cuando el tamaño de poro así lo permite son más difíciles de re-disolver y de conseguir su difusión hacia el exterior [61]. A modo de resumen la tabla 5.13 muestra el tiempo que tarda cada uno de los materiales en alcanzar una concentración de 2 µg/mL que es la considerada como concentración mínima inhibitoria (CMI).

Tabla 5.13.- Resultados de la liberación desde el dispositivo de acero poroso

Material	MCM-41	MEM		SBA-15	Cuarzo	Disolución hospitalaria	
Lavado	Método 1	Método 1	Método 2	Método 3	Método 3	Método 1	-
Tiempo (h) para alcanzar una concentración de 2 µg/ml	5,25 ± 2,82 h	5,63 ± 0,57 h	7,36 ± 1,71h	5,15 ± 1,84h	5,34 ± 0,97h	47 min ± 28 min	< 6 min

5.3. Liberación a través de membrana

A fin de comparar diversos sistemas de liberación de antibióticos en dispositivos implantables mediante cirugía ortopédica, se propuso una alternativa al lecho empaquetado descrito anteriormente. Dicha alternativa consistió en el mecanizado de tornillos huecos de acero inoxidable de pared lisa de 1 mm de espesor y en la que se hizo un orificio de 1 mm de diámetro. Sobre dicho orificio se sintetizó una membrana de material poroso (silicalita-1) tal como se indica en el apartado 2.2.2.2. En este caso, la difusión del fármaco contenido en el interior del tornillo hueco sería controlada por la estructura microporosa de la membrana zeolítica la cual estaría ofreciendo resistencia al flujo y tamizado molecular.

5.3.1. Materiales utilizados

Llevar a cabo la síntesis de una membrana zeolítica autosoportada de 1 mm de diámetro sin defectos intercristalinos no es sencillo de conseguir y conlleva un proceso de síntesis repetitivo que se indica en el apartado 2.2.2.2. Una imagen de la membrana se muestra en la figura 5.25 donde se observa que los cristales no tienen una orientación específica.

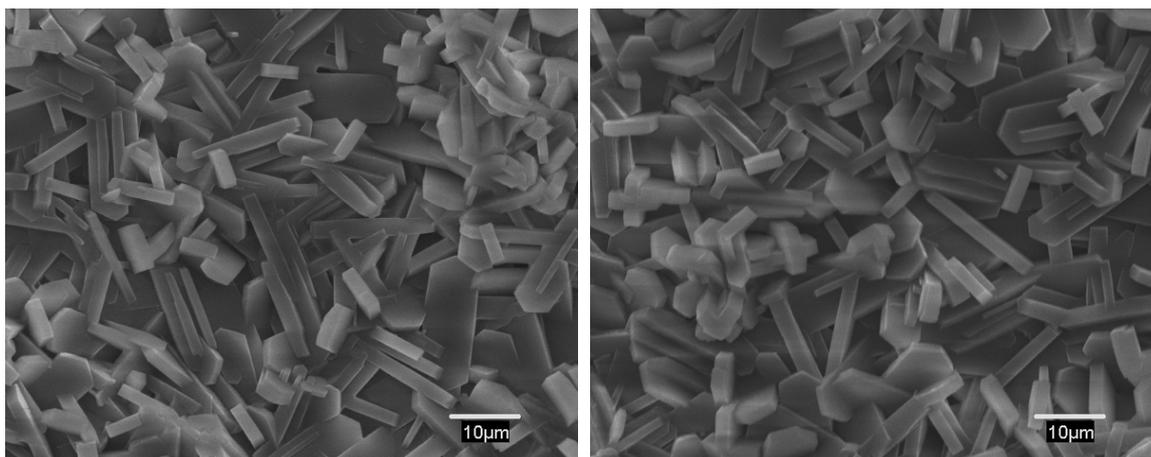


Figura 5.25.- Fotografías SEM de la membrana de silicalita sintetizada sobre el vástago del tornillo.

5.3.2. Ensayos previos

Para comprobar que el concepto propuesto podía funcionar, se realizaron unos ensayos previos. Puesto que la silicalita posee un tamaño de poro de 0,55 x 0,51 nm en su dirección (1 0 0) y de 0,53 x 0,56 nm en su dirección (0 1 0) se utilizaron dos compuestos, uno de tamaño más pequeño que el de los microporos zeolíticos como es el yodo (0,266 nm) y un compuesto cuyas dos dimensiones son mayores que las del tamaño de los poros zeolíticos como es el azul de metileno (1,7 x 0,7 nm). Los compuestos se introdujeron en un tornillo donde se había sintetizado una membrana de silicalita y se estudió su liberación con el tiempo. Se observó que al cabo de 21 días sólo se había liberado yodo y que la liberación del azul de metileno estaba impedida. De este experimento se pudo concluir que era posible la síntesis de una membrana libre de defectos intercristalinos mayores de (1,7 x 0,7 nm) que permitiría controlar la liberación de fármacos desde el interior del tornillo.

5.3.3. Experimentación realizada

Una vez comprobado el concepto se procedió a la realización de los ensayos con Linezolid una molécula en la que por lo menos una de las dimensiones (1,50 x 0,45 nm) es menor que el tamaño de poro de la silicalita (~0,55 nm). Los tornillos se cargaron con distinto volumen de fármacos: 240, 250 y 280 μ L. Para estos tres tornillos con membrana los resultados se muestran en la tabla 5.14.

Tabla 5.14.- Resultados de la liberación desde el dispositivo cargado de disolución hospitalaria de Linezolid 160 h

Disolución de Linezolid (mL)	Linezolid disponible M_{F0} (μ g)	% de Linezolid liberado
280	560	47,77
250	500	44,19
240	480	47,59

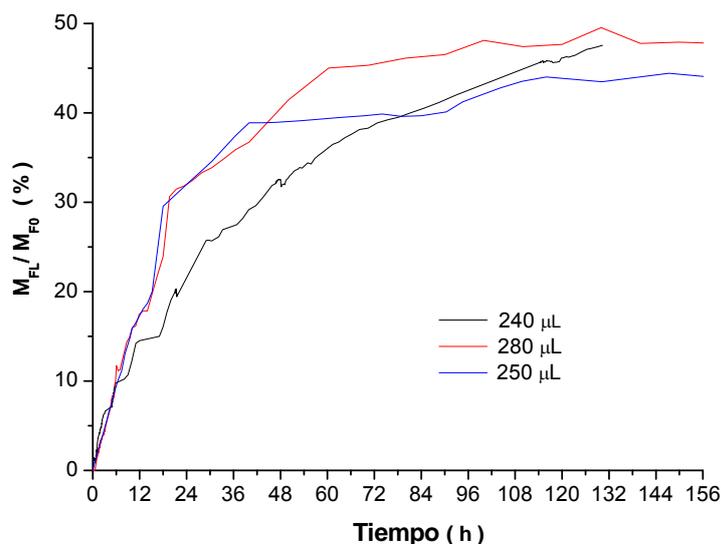


Figura 5.26.- Cinética de liberación de la disolución hospitalaria de Linezolid (2mg/mL) en 50 mL de SBF a 37 °C a través de membranas de silicalita.

Como cabía esperar se observan curvas de liberación similares en los tres casos que indicarían que la liberación está controlada por el tamaño de poro. No obstante, es lógico que exista alguna pequeña diferencia entre las curvas, puesto que se trata de tres membranas distintas y debido al proceso de síntesis han de existir pequeñas diferencias entre las membranas. Por otro lado, al igual que para los materiales mesoporosos, los tres ensayos de liberación ajustan perfectamente a una forma exponencial del tipo de la ecuación (5.7):

Los parámetros característicos de la liberación de Linezolid a través de una membrana de silicalita obtenidos de estas gráficas son: $C_{\infty} = 4,79 \pm 0,56 \mu\text{g/mL}$, $k = 0,04 \pm 0,01 \text{ h}^{-1}$ y $R^2 = 0,99$.

Se puede observar que las velocidades de liberación son muy similares en los tres casos, lo que implica que la velocidad de liberación está controlada por el tamaño de poro de la zeolita. Por lo tanto, la síntesis de la membrana se ha llevado de manera correcta y no existen espacios intercristalinos o grietas que permitan una liberación de fármaco descontrolada. También cabe destacar que si el fármaco tiene una de las dimensiones menores del tamaño de poro de

la silicalita puede difundir a través de ellos, a diferencia de lo que ocurría con el azul de metileno.

Según los datos obtenidos en los ensayos, la liberación de fármaco corresponde a un $46,51 \pm 1,65$ % del fármaco inicialmente introducido en el tornillo. Existe una gran diferencia de concentración entre ambas partes de la membrana, por lo que no se puede considerar que existe un equilibrio entre ambos lados, ni que se haya producido una saturación de Linezolid en SBF ya que nos encontramos muy lejos de éste, que es 3 mg/mL [57]. Por lo tanto, la opción más probable es que el Linezolid se haya quedado adsorbido o bloqueado en las paredes de la membrana ya que una de las dimensiones es mayor que el tamaño de poro de la silicalita o que se haya producido un bloqueo del material zeolítico que impida la difusión del fármaco.

5.3.4. Resumen de liberación a través de membrana

En primer lugar, se ha podido sintetizar una membrana de silicalita de 1 mm de diámetro en el vástago de un tornillo sin la existencia de grietas o espacios intercristalinos. En segundo lugar, se ha conseguido una liberación controlada de un fármaco a través de dicha membrana desde el interior de un dispositivo al fluido exterior (SBF). Por lo que este dispositivo también podría considerarse como un sistema de liberación de fármacos para su posible uso en cirugía ortopédica y traumatología.

5.4. Bibliografía

- [1] M. Arruebo, N. Vilaboa, J. Santamaria, *Expert Opin. Drug Deliv.* 7 (2010) 1.
- [2] D. Arcos, M. Vallet-Regí, *Acta Materialia* 61 (2013) 890.
- [3] J.M. Kim, T.S. Han, M.H. Kim, D.S. Oh, S.S. Kang, G. Kim, T.Y. Kwon, K.H. Kim, K.B. Lee, J.S. Son, S.H. Choi, *Tissue Eng. Regen. Med.* 9 (2012) 175.
- [4] M. Zhu, H. Wang, J. Liu, H. He, X. Hua, Q. He, L. Zhang, X. Ye, J. Shi, *Biomaterials* 32 (2011) 1986.
- [5] Y. Minaberry, M. Jobbágy, *Chem. Mater.* 23 (2011) 2327.
- [6] N. Rahmat, A.Z. Abdullah, A.R. Mohamed, *Am. J. Appl. Sci.* 7 (2010) 1579.
- [7] Z. Kong, M. Yu, K. Cheng, W. Weng, H. Wang, J. Lin, P. Du, G. Han, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 111 (2013) 536.
- [8] F. Martin, R. Walczak, A. Boiarski, M. Cohen, T. West, C. Cosentino, M. Ferrari, *J. Control. Release* 102 (2005) 123.
- [9] W. Xia, K. Grandfield, A. Hoess, A. Ballo, YL. Cai, H. Engqvist, *J. Biomed. Mater. Res. B Appl. Biomater.* 100B (2012) 82.
- [10] J. Karlsson, R. Jimbo, H. M. Fathali, H. O. Schwartz-Filho, M. Hayashi, M. Halvarsson, A. Wennerberg, M. Andersson, *Acta Biomaterialia* 8 (2012) 4438.
- [11] L. M. Perez, P. Lalueza, M. Monzon, J. A. Puertolas, M. Arruebo, J. Santamaría, *International Journal of Pharmaceutics* 409 (2011) 1.
- [12] M. Elices, 2000. *Structural Biological Materials, Design and Structure–Property Relationships*. Ed. Pergamon Pergamon Materials Series, Oxford, UK.
- [13] P. Meyrueis, A. Cazenave, R. Zimmermann, *EMC - Aparato Locomotor* 37 (2004) 1.
- [14] D. Guede, P. González, J.R. Caeiro, *Rev. Osteoporos. Metab. Miner.* 5 (2013) 43.
- [15] A. Cigada, G. De Soutis, A.M. Gratti, A. Roos, D.J. Zaffe, *J. Appl. Biomater.* 4 (1993) 39.

- [16] D.T. Reilly, A.H. Burstein, J. Biomech. 8 (1975) 393.
- [17] J.R. Caeiro, P. González, D Guede, Rev. Osteoporos. Metab. Miner. 5 (2013) 99.
- [18] K. Schumacher, P. I. Ravikovitch, A. D. Chesne, A. V. Neimark, K. K. Unger, Langmuir 16 (2000) 4648.
- [19] P. Horcajada, A. Rámila, J. Pérez-Pariente, M. Vallet-Regí, Microporous and Mesoporous Materilas 68 (2004) 105.
- [20] A. Datt, I. El-Maazawi, S. C. Larsen, J. Phys. Chem. C, 116 (2012) 18358.
- [21] J. A. Puértolas, J. L. Vadillo, S. Sánchez-Salcedo, A. Nieto, E. Gómez-Barrena, M. Vallet-Regí, J. Mater. Sci.: Mater. Med. 23 (2012) 229.
- [22] Y. Hu, Z. Zhi, Q. Zhao, C. Wu, P. Zhao, H. Jiang, T. Jiang, S. Wang, Microporous and Mesoporous Materials 147 (2012) 94.
- [23] M. M. Wan, J. Y. Yang, Y. Qiu, Y. Zhou, C. X. Guan, Q. Hou, W. G. Lin, J. H. Zhu, ACS Appl. Mater. Interfaces 4 (2012) 4113.
- [24] N. Vadia, S. Rajputb, Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research 4 (2011) 44.
- [25] O. I. Lebedev , G. Van Tendeloo, O. Collart, P. Cool, E. F. Vansant, Solid State Sciences 6 (2004) 489.
- [26] W. Zeng, X.F. Qian, Y.B. Zhang, Y. Jie, Z. Zi-Kang, Materials Research Bulletin 40 (2005) 766.
- [27] W. Xu, Q. Gao, Y. Xu, D. Wu, Y. Sun, W. Shen, F, Deng, Powder Technology 191 (2009) 13
- [28] Macias D, Materiales mesoporosos MCM-41 y SBA-15. (<http://es.slideshare.net/mtroavidmaciasferrer/materiales-mesoporosos-sba15-y-mcm41>).
- [29] R. Schmidt, M. Stöcker, O. H. Ellestad, Zeolites: A Refined Tool for Designing Catalytic Sites 97 (1995) 149

- [30] H. Gies, S. Grabowski, M. Bandyopadhyay, W. Grünert, O.P. Tkachenko, K.V. Klementiev, A. Birkner, *Microporous and Mesoporous Materials* 60 (2003) 31.
- [31] Y. Gucbilmez, A. S. Yargic, I. Calis, *Journal of Nanomaterials* 2012 (2012) 1
- [32] R. Schmidt, M. Stöcker, O. H. Ellestad, Elsevier Science B.V. (1995) 149.
- [33] M. Guidotti, C. Pirovano, N. Ravasio, B. Lázaro, J. M. Fraile, J. A. Mayoral, B. Coq, A. Galarneau, *Green Chem.*, 11 (2009) 1421.
- [34] M. Vallet-Regí, F. Balas, M. Colilla, M. Manzano, *Progress in Solid State Chemistry* 36 (2008) 163.
- [35] C. Yu, J. Fan, B. Tian and D. Zhao, *Chemical Materials* 16 (2004) 889.
- [36] T.P.B. Nguyen, J.-W. Lee, W.G. Shim, H. Moon, *Microporous and Mesoporous Materials* 110 (2008) 560.
- [37] M. Moritz, M. Łaniecki, *Applied Surface Science* 258 (2012) 7523.
- [38] L. Zhang, Y. Zhao, H. Dai, H. He, C.T. Au, *Catalysis Today* 131 (2008) 42.
- [39] D. Zhao, J. Feng, Q. Huo, N. Melosh, G.H. Fredrickson, B.F. Chmelka, G.D. Stucky, *Science* 279 (1998) 548.
- [40] D. Zhao, Q. Huo, J. Feng, B.F. Chmelka, G.D. Stucky, *J. Am. Chem. Soc.* 120 (1998) 6024.
- [41] G. Chandrasekar, K.-S. You, J.-W. Ahn, W.-S. Ahn, *Microporous and Mesoporous Materials* 111 (2008) 455.
- [42] S. P. Hudson, R. F. Padera, R. Langer, D. S. Kohane, *Biomaterials* 29 (2008) 4045.
- [43] F. Sevimli, A. Yilmaz, *Microporous and Mesoporous Materials* 158 (2012) 281.
- [44] M. Manzano, V. Aina, C.O. Areán, F. Balas, V. Cauda, M. Colilla, M.R. Delgado, M. Vallet-Regí, *Chemical Engineering Journal* 137 (2008) 30.

- [45] D. Carmona, P. Lalueza, F. Balas, M. Arruebo, Jesús Santamaría, *Microporous and Mesoporous Materials* 161 (2012) 84.
- [46] D. Halamová, V. Zeleňák, *Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry* 72 (2012) 15.
- [47] M. Vallet-Regí, F. Balas, M. Colilla, M. Manzano, *Solid State Sciences* 9 (2007) 768.
- [48] <http://www.chemspider.com>
- [49] Y. Tozuka, E. Sugiyama, H. Takeuchi, *International Journal of Pharmaceutics* 386 (2010) 172.
- [50] L. Gao, J. Sun, L. Zhang, J. Wang, B. Ren, *Materials Chemistry and Physics* 135 (2012) 786.
- [51] D. Molina-Manso, M. Manzano, J. C. Doadrio, G. Del Prado, A. Ortiz-Pérez, M. Vallet-Regí, E. Gómez-Barrena, J. Esteban, *International Journal of Antimicrobial Agents* 40 (2012) 252.
- [52] F. Balas, M. Manzano, M. Colilla, M. Vallet-Regí, *Acta Biomater* 4 (2008) 514.
- [53] A. Nieto, F. Balas, M. Colilla, M. Manzano, M. Vallet-Regí, *Microporous & Mesoporous Mater* 116 (2008) 4.
- [54] L. Gao, J. Sun, Y. Li, *Journal of Solid State Chemistry* 184 (2011) 1909.
- [55] V. Mouriño, A. R. Boccaccini, *J. R. Soc. Interface* 7 (2010) 209.
- [56] HT Xu, XS Wang, LM Tao, SX Wu, *Science China Chemistry* 53 (2010) 561.
- [57] J. Curtin, M. Cormican, G. Fleming, J. Keelehan, E. Colleran, *47* (2003) 47 3145.
- [58] M. Gimeno, P. Pinczowski, F. J. Vázquez, M. Pérez, J. Santamaría, M. Arruebo, L. Luján, *International Journal of Pharmaceutics* 452 (2013) 166.

- [59] Z. Chen, X. Li, H. He, Z. Ren, Y. Liu, J. Wang, Z. Li, G. Shen, G. Han, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 95 (2012) 274.
- [60] F. Qu, G. Zhu, H. Lin, W. Zhang, J. Sun, S. Li, S. Qiu, *J. Solid State Chem.* 179 (2006) 2027.
- [61] S-C Shen, W. K. Ng, L. Chia, J. Hu, R. B.H. Tan, *International Journal of Pharmaceutics* 410 (2011) 188.

6. CONCLUSIONES

En este capítulo se muestran las principales conclusiones obtenidas de la presente memoria.

6.1. *Tratamientos superficiales*

En cuanto a los tratamientos superficiales:

- ✓ Los tratamientos siguientes sobre Nitinol: tratamiento hidrotermal (80 °C durante 30 minutos o en fluido biológico simulado a 37 °C durante 1 mes), oxidación química, pulido mecánico, pulido mecánico seguido bien de tratamiento hidrotermal o bien de oxidación química y tratamiento hidrotermal u oxidación química seguida de pulido mecánico generan una capa de pasivación basada en TiO_2 que aumenta el potencial de corrosión.
- ✓ Una capa de pasivación basada en TiO_2 a partir de un espesor de 1,6 nm, siempre que ésta sea homogénea, permite al material alcanzar una intensidad de pasivación estable y protege al material de la corrosión.
- ✓ El tratamiento hidrotermal produce una capa de pasivación basada en TiO_2 y Ni_2O_3 que disminuye la velocidad de corrosión de la superficie del Nitinol. .
- ✓ Para evitar la lixiviación de níquel son necesarios los tratamientos de oxidación química, pulido mecánico seguido de oxidación química y tratamiento oxidación química seguida de pulido mecánico.
- ✓ La electroerosión no pasiva la superficie del corte y por lo tanto, contribuye a la lixiviación de níquel.
- ✓ Para no perder la propiedades superelásticas del sustrato de Nitinol hay que evitar tratamientos que conlleven temperaturas por encima de los 380 °C durante periodos de tiempos superiores a 8 horas.

6.2. Recubrimientos

Una vez estudiados los distintos métodos de recubrimiento, se puede concluir que:

- ✓ Los métodos de Colvin, enlace covalente y síntesis hidrotermal directa permiten recubrir eficientemente la superficie del Nitinol con microesferas mesoporosas y cristales de zeolita.
- ✓ El método de Colvin y la síntesis directa (repetida varias veces sobre el sustrato) permiten obtener una multicapa de material poroso fuertemente sujeto a la superficie del material. Mientras que el enlace covalente y una única síntesis directa sobre el sustrato permiten obtener una monocapa de material poroso también fuertemente sujeto a la superficie del sustrato.
- ✓ La rugosidad del material es un factor clave a la hora de utilizar el método de enlace covalente ya que al disminuir la rugosidad se favorece el recubrimiento del sustrato mediante enlace covalente.
- ✓ Los recubrimientos de materiales porosos estudiados no se pueden utilizar con la intención de reducir o eliminar la lixiviación de níquel.
- ✓ Los métodos de Colvin, enlace covalente y síntesis directa (repetida una única vez) permiten obtener recubrimientos de materiales porosos aptos para aplicaciones en los que se necesiten soportar deformaciones del 8 %.
- ✓ Los recubrimientos de materiales porosos mediante los métodos de Colvin y enlace covalente no afectan a las propiedades mecánicas del sustrato, pero permiten aumentar el potencial de corrosión y el potencial de transpasivación del mismo.
- ✓ La necesidad de utilizar un tratamiento térmico con temperaturas de 480 °C durante 8 h para eliminar el templante del material poroso implica la pérdida de la superelasticidad de sustrato.

- ✓ El método de Colvin y el método de enlace covalente no permiten obtener recubrimientos de materiales porosos sobre la superficie del Nitinol capaces de resistir enlazados al sustrato durante largos periodos de tiempo si se encuentran sumergidos en fluido biológico simulado (SBF).

6.3. Liberación de fármacos

Los resultados de liberación de fármacos indican que:

- ✓ Se podría utilizar un dispositivo cilíndrico basado en acero poroso 316L como implante ya que resiste las cargas a las que se vería sometido en su posible uso clínico. A su vez este dispositivo se convertiría en un reservorio de material poroso que añadiría la capacidad de liberar fármaco.
- ✓ Este implante de acero poroso permite un gran control de la cantidad y la velocidad de liberación del fármaco, ya que las variables relacionadas con el material poroso y de la pared porosa del depósito pueden ser manipulados de forma independiente.
- ✓ La influencia de la adsorción de fármaco de las micropartículas porosas en el proceso de liberación global queda demostrada al comparar con los perfiles de liberación del cuarzo no poroso.
- ✓ Es posible utilizar un dispositivo basado en la combinación de acero 316L y membrana de zeolita como sistema para la liberación controlada de fármacos.
- ✓ Dicha membrana, permite tener un gran control de la velocidad de liberación del fármaco, ya que las variables relacionadas con el material poroso de la membrana y el espesor de la pared del depósito pueden ser manipulados de forma independiente.

7. PUBLICACIONES

7.1. Artículos relacionados con este trabajo

1. Título: "***Mechanochemical characterisation of silica-based coatings on Nitinol substrates***"

Autores: **L. M. Pérez**, M. Arruebo, S. Irusta, L. Gracia-Villa, J. Santamaría, J. A. Puértolas.

Revista: Microporous and Mesoporous Materials 98 (2007) 292–302

2. Título: "***Effect of Nitinol Surface Treatments on Its Physico-Chemical Properties***"

Autores: **L. M. Pérez**, L. Gracia-Villa, J. A. Puértolas, M. Arruebo, S. Irusta, J. Santamaría.

Revista: J. Biomed. Mater. Res. Part B: Appl. Biomater. 91B (2009) 337–347.

3. Título: "***Hollow porous implants filled with mesoporous silica particles as a two-stage antibiotic-eluting device***"

Autores: **L. M. Pérez**, P. Lalueza, M. Monzón, J. A. Puértolas, M. Arruebo, J. Santamaría.

Revista: International Journal of Pharmaceutics 409 (2011) 1–8.

7.2. Contribuciones a congresos

1. Título: "*Silica-based coatings on Nitinol substrates as potential drug-delivery systems*"

Autores: **L. M. Pérez**, M. Arruebo, L. Gracia-Villa, J. A. Puértolas, J. Santamaría.

4th International Zeolite Membrane Meeting. Zaragoza, Spain 2009. Poster presentation.

2. Título: "*Biocompatibility of silica-based coatings on Nitinol substrates*"

Autores: **L. M. Pérez**, M. Arruebo, L. Gracia-Villa, J. Santamaría, J. A. Puértolas.

8th World Biomaterials Congress WBC. Amsterdam, Holanda 2008. Poster presentation.

3. Título: "*Surface treatments to prevent nickel migration from Nitinol substrates*"

Autores: M. Arruebo, **L. M. Pérez**, L. Gracia-Villa, J. Santamaría, J. A. Puértolas.

8th World Biomaterials Congress WBC. Amsterdam, Holanda (2008). Poster presentation.

3. " *Antimicrobial activity of silver-exchanged zeolites as coatings on biomedical devices*"

Autores: P. Lalueza, , **L. M. Pérez**, M. Monzón, M. Arruebo, J. Santamaría, J. A. Puértolas.

22nd European Conference on Biomaterials. Lausanne, Suiza (2009). Poster presentation.

7.3. Patentes

Título: "***Implante de hueso, dotado de límites porosos, para la liberación controlada de compuestos terapéuticamente activos***"

Inventores/as (p.o de firma): Manuel Arruebo Gordo, Silvia Irusta Alderete, **Luis Manuel Pérez Puentes**, Patricia Lalueza Valero, José Antonio Puértolas Ráfales, Luis Gracia Villa, Felícito Enrique García-Álvarez García, Marta Monzón Garcés, Jesús Santamaría Ramiro.

Nº DE SOLICITUD: P200931157.

PAIS DE PRIORIDAD: España.

FECHA DE PRIORIDAD: 11/12/09.